



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

BRUNA YUMI YOSHIDA

**PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E
TECNOFUNCIONAIS DE OKARA DE SOJA ENVELHECIDA
E APLICAÇÃO DO COPRODUTO EM SALSICHA**

Londrina
2014

BRUNA YUMI YOSHIDA

**PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E
TECNOFUNCIONAIS DE OKARA DE SOJA ENVELHECIDA
E APLICAÇÃO DO COPRODUTO EM SALSICHA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sandra Helena Prudencio

Londrina
2014

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Y65p Yoshida, Bruna Yumi.
Propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais de *okara* de soja envelhecida e aplicação do coproduto em salsicha / Bruna Yumi Yoshida. – Londrina, 2014.
116f. : il.

Orientador: Sandra Helena Prudencio.

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Alimentos – Armazenamento – Teses. 2. Salsichas – Teses. 3. Soja – Propriedades físico-químicas – Teses. 4. Alimentos – Composição – Teses. 5. Farinha de soja – Teses. 6. Proteínas de soja – Solubilidade – Teses. I. Prudencio, Sandra Helena. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 641.1

BRUNA YUMI YOSHIDA

**PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E TECNOLÓGICAS DE
OKARA DE SOJA ENVELHECIDA E APLICAÇÃO DO COPRODUTO
EM SALSICHA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sandra Helena
Prudencio
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof.^a Dr.^a Neusa Fátima Seibel
Universidade Tecnológica Federal do Paraná –
UTFPR

Prof.^a Dr.^a Neide Kiyoko Kondo Kamizake
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 12 de dezembro de 2014..

Dedico

A Deus, que me capacitou de força e sabedoria durante esta trajetória.

Aos meus pais, irmão e avós.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido saúde, força e proteção durante este trabalho.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Sandra Helena Prudencio, por ter me recebido como sua aluna e orientanda. Muito obrigada pela dedicação e paciência. Obrigada pelos valiosos ensinamentos.

À minha família, meus pais, Dirce Yoshida e Eduardo Yoshida e meu irmão, Eder Yoshida. A essência da nossa família sempre foi fundamental para minha formação, como pessoa e profissional.

Ao Pedro Henrique Fávaro Borsatto, pelo companheirismo, compreensão e motivação incondicional.

À amiga Fernanda Carla Henrique, por todo carinho, apoio e amizade.

À amiga Melissa Ferrari Pagnan, pela companhia e amizade que construímos durante esta trajetória.

Aos amigos Natália Cenedesi Vicentim Bom, Fernando Sanches de Lima e Cíntia Ladeira Handa, pelas tantas contribuições.

À Prof.^a Dr.^a Neide Kiyoko Kondo Kamizake, que generosamente me ensinou o método de envelhecimento da soja e sempre esteve à disposição para ajudar.

À minha avó Kazuko Yoshida, que carinhosamente costurou os saquinhos de filó para o envelhecimento dos grãos.

À Prof.^a Dr.^a Neusa Fátima Seibel, por todo ensinamento e orientação durante a graduação, que foram essenciais para realização de muitas análises deste estudo.

A Daneysa Lahis Kalschne por todo suporte dado durante a elaboração das salsichas.

A Sabrina Penteado por toda sua dedicação durante os trabalhos realizados para produção das salsichas, mas sobretudo pela nossa amizade.

A Dirlei Kieling, Fernanda Carla Henrique e Sabrina Penteado pela colaboração na realização da análise sensorial.

A Katri Gasparin, pela colaboração nas análises microbiológicas das salsichas.

Aos amigos, Marcela Colombo dos Santos, Daniele Honorato, Maria Rita Porto, Marcela Guelfi, Melina Cardoso, Natália Niguma, Naiara Ricardo Ramos, Rodolfo Campos Zanin, Suzana Tiemi Matsubara, Thanise Pitelli, Leniza Ludwig, Julyene Francisco, Cyntia Tanaka, Marsilvio Filho, Talita Kato, Paulo Barbeta, Cintia Kawanishikawahara, Yumi Tabushi, Marli Busanello, Karla Guergoletto, Cássia Takabayashi, Tahis Baú, Angélica Ishikawa, Adriana Passos Dias, Alécio Quinhone, André Mori e ao Prof. Paulo de Tarso Carvalho, pelo convívio harmonioso. Foi um grande prazer estar com vocês durante esta caminhada.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (UEL) por compartilharem o conhecimento adquirido com tanta dedicação.

A SL Alimentos pelo fornecimento da soja.

A Frios Fattoria, em especial ao Thiago Ranolfi, Solae™ e Duas Rodas pelo fornecimento dos ingredientes para produção da salsicha.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

YOSHIDA, Bruna Yumi. **Propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais de okara de soja envelhecida e aplicação do coproduto em salsicha**. 2014. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina - PR.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito do envelhecimento acelerado de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill] sobre o rendimento e as propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais de farinha desengordurada de *okara*, coproduto do extrato de soja e *tofu*, e avaliar as consequências da aplicação do coproduto em formulação de salsicha. Os grãos foram armazenados a 30°C e 84% UR durante seis meses e uma amostra controle foi mantida a - 18°C. Os *okara* foram obtidos de grãos controle e envelhecidos a cada mês e, em seguida, secos, moídos (farinhas integrais) e desengordurados (farinhas desengorduradas). Foram determinadas as composições químicas dos grãos, farinhas integrais de *okara* e farinhas desengorduradas de *okara* e os rendimentos dos extratos de soja, *okara* úmido, farinhas integrais de *okara* e farinhas desengorduradas de *okara*. As farinhas desengorduradas de *okara* foram analisadas quanto à cor, pH, perfil de solubilidade das proteínas em diferentes pHs e propriedades tecnofuncionais (índice de absorção e retenção de água e óleo, volume de intumescimento, densidade aparente, solubilidade em água e propriedades emulsificantes e espumantes). As farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle e envelhecida por seis meses foram aplicadas em formulações de salsichas como substitutos parciais (50%) da proteína isolada de soja da salsicha convencional. As salsichas foram avaliadas quanto ao rendimento, cor, composição química, qualidade microbiológica e aceitação de atributos (teste de aceitação). Os dados foram tratados por ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey, considerando 5%, o nível de significância. Com o armazenamento da soja, houve decréscimo do teor de proteínas e lipídios e aumento de umidade nos grãos. Na elaboração do *okara*, a água absorvida pelos grãos durante a maceração diminuiu, a massa de *okara* úmido aumentou e o volume de extrato de soja obtido não se alterou. O rendimento da farinha integral de *okara* aumentou de 20,38% (controle) para 28,93% (seis meses). As farinhas desengorduradas de *okara* tornaram-se mais escuras e vermelhas, o conteúdo de proteínas aumentou de 23,47 (controle) para 37,77 g/100 g, b.s. (seis meses) e os teores de cinzas e carboidratos diminuíram, houve redução do pH e da solubilidade proteica em diferentes pHs. Quanto às propriedades tecnofuncionais, a solubilidade das proteínas em água, o volume de intumescimento e as propriedades emulsificantes diminuíram e os índices de absorção e retenção de água e óleo não alteraram e a densidade aparente e as propriedades espumantes aumentaram. O emprego das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle e envelhecida por seis meses em formulações de salsichas provocaram pequenas alterações no rendimento, cor e composição química dos produtos. O teste de aceitação de atributos mostrou que as três formulações de salsichas foram bem aceitas, com notas entre 6 e 7 em escala hedônica de 9 pontos mostrando apreciação semelhante em relação a aparência, aroma e textura. A salsicha com farinha desengordurada de *okara* de soja envelhecida por seis meses foi ligeiramente menos apreciada em relação ao sabor, o que impactou na avaliação global.

Palavras-chave: Armazenamento. Extrato de soja. Proteínas. Solubilidade das proteínas. Propriedades tecnofuncionais. Produto emulsionado.

YOSHIDA, Bruna Yumi. **Physical, chemical and technofunctional properties of okara from aged soybean and coproduct application in sausage**. 2014. 116 p. Dissertation (Master's Degree in Food Science) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina - PR.

ABSTRACT

This research aimed to study the effect of accelerated aging of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] on yield and physical, chemical and technofunctional properties of defatted okara flour, coproduct from soymilk and tofu, and evaluate the consequences of the coproduct application in a sausage formulation. The grains were stored under conditions of 30°C and 84% RH for six months and a control sample was stored at - 18°C. The okara were obtained from control and aged grains from each month and dried, ground (whole flour) and defatted (defatted flour). The chemical composition of the grains, whole okara flours and defatted okara flours and the yields of soymilk, wet okara, whole okara flours and defatted okara flours were determined. The defatted okara flours were analyzed for color, pH, protein solubility profile at different pH and functional properties (water and oil absorption and holding index, swelling capacity, bulk density, water solubility and emulsifying and foaming properties). The defatted okara flour from control soybean and aged for six months were used in formulations as partial substitutes (50%) of the soy protein isolate of conventional sausage. The sausages were evaluated for yield, color, chemical composition, microbiological quality and acceptance of attributes (acceptance test). The data were treated by ANOVA and Tukey mean comparison test considering 5%, the significance level. Soybean storage caused decrease in protein and lipids content and an increase in moisture in the grains. During okara production, the water absorbed by the grains during soaking decreased, the weight of wet okara increased and the volume of soymilk obtained did not change. The whole okara flour yield increased from 20.38% (control) to 28.93% (six months). The defatted okara flours became darker and red, the protein content increased from 23.47 (control) to 37.77 g/100 g, d.b. (six months) and the ash and carbohydrates content decreased, and the pH and protein solubility at different pHs reduced. For functional properties, the protein solubility in water, swelling capacity and emulsifying properties decreased and there was no change in water and oil absorption and holding index and the bulk density and foaming properties increased. The use of defatted okara flour from control soybean and aged for six months in sausage formulation resulted little changes in yield, color and chemical composition of the products. The attributes acceptance test showed that the sausages formulations were well accepted, with scores between 6 e 7 at hedonic scale of 9 points showing similar appreciation for appearance, aroma and texture. The sausage with defatted okara flour from soybean aged for six months was slightly less appreciated for flavor, which impacted the overall evaluation.

Keywords: Storage. Soymilk. Proteins. Protein solubility. Technofunctional properties. Emulsified product.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1** – pH das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle e envelhecida em diferentes tempos78
- Figura 2** – Perfil de solubilidade proteica em diferentes pHs das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle e envelhecida em diferentes tempos79

ARTIGO 2

- Figura 1** – Solubilidade proteica em água das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle e envelhecida em diferentes tempos95
- Figura 2** – Capacidade espumante das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle e envelhecida em diferentes tempos100
- Figura 3** – Estabilidade das espumas das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle e envelhecida em diferentes tempos101

LISTA DE QUADROS

REVISÃO DE LITERATURA

Quadro 1 – Composição química do *okara* (g/100 g de matéria seca)23

ARTIGO 2

Quadro 1 – Composição química das farinhas desengorduradas de *okara* (FDO) de soja controle e envelhecida em diferentes tempos88

Quadro 2 – Formulações das salsichas91

LISTA DE TABELAS

MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 1 – Formulações das salsichas	50
---	----

ARTIGO 1

Tabela 1 – Composição química dos grãos de soja BRS 257 controle e envelhecidos em diferentes tempos	71
---	----

Tabela 2 – Absorção de água pelos grãos, e rendimento e conteúdo proteico de extratos e <i>okara</i> de soja controle e envelhecida em diferentes tempos.....	73
--	----

Tabela 3 – Parâmetros de cor das farinhas desengorduradas de <i>okara</i> de soja controle e envelhecida em diferentes tempos	75
--	----

Tabela 4 – Rendimento e composição química das farinhas desengorduradas de <i>okara</i> de soja controle e envelhecida em diferentes tempos	77
--	----

ARTIGO 2

Tabela 1 – Densidade aparente, volume de intumescimento (VI), índice de absorção e retenção de água (IARA) e índice de absorção e retenção de óleo (IARO) das farinhas desengorduradas de <i>okara</i> de soja controle e envelhecida em diferentes tempos	97
---	----

Tabela 2 – Propriedades emulsificantes das farinhas desengorduradas de <i>okara</i> de soja controle e envelhecida em diferentes tempos	99
--	----

Tabela 3 – Rendimento e cor das salsichas sem farinha desengordurada de <i>okara</i> e com farinha desengordurada de <i>okara</i> de soja controle e envelhecida por seis meses	102
--	-----

Tabela 4 – Composição química das salsichas sem farinha desengordurada de <i>okara</i> e com farinha desengordurada de <i>okara</i> de soja controle e envelhecida por seis meses	103
--	-----

Tabela 5 – Aceitação de atributos sensoriais das salsichas sem farinha desengordurada de <i>okara</i> e com farinha desengordurada de <i>okara</i> de soja controle e envelhecida por seis meses	104
---	-----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1	ASPECTOS GERAIS DA SOJA.....	18
3.2	PRODUTOS DE SOJA	20
3.3	PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE <i>OKARA</i>	23
3.3.1	Solubilidade	24
3.3.2	Capacidade de Absorção e Retenção de Água e Óleo	25
3.3.3	Propriedades Emulsificantes	27
3.3.4	Propriedades Espumantes.....	29
3.4	APLICAÇÃO DE <i>OKARA</i> EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS.....	30
3.4.1	Salsicha: Uma Opção para o Emprego do <i>Okara</i>	31
3.5	ARMAZENAMENTO E ENVELHECIMENTO DA SOJA	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	MATERIAL	43
4.2	MÉTODOS	43
4.2.1	Envelhecimento Acelerado de Soja.....	43
4.2.2	Produção de <i>Okara</i>	44
4.2.3	Absorção de Água pelos Grãos de Soja Durante a Maceração.....	44
4.2.4	Desengorduramento da Farinha Integral de <i>Okara</i>	44
4.2.5	Composição Química.....	45
4.2.6	Rendimento das Farinhas Integral e Desengordurada de <i>Okara</i>	45
4.2.7	Medidas de Cor das Farinhas Desengorduradas de <i>Okara</i>	45
4.2.8	pH das Farinhas Desengorduradas de <i>Okara</i>	45
4.2.9	Propriedades Tecnológicas das Farinhas Desengorduradas de <i>Okara</i>	46
4.2.9.1	Solubilidade das proteínas das farinhas desengorduradas de <i>okara</i> em diferentes pHs.....	46
4.2.9.2	Solubilidade das proteínas das farinhas desengorduradas de <i>okara</i> em água	46
4.2.9.3	Índice de absorção e retenção de água (IARA).....	47
4.2.9.4	Índice de absorção e retenção de óleo (IARO)	47

4.2.9.5	Volume de intumescimento (VI).....	47
4.2.9.6	Densidade aparente.....	47
4.2.9.7	Capacidade emulsificante (CE)	48
4.2.9.8	Atividade emulsificante (AE)	48
4.2.9.9	Estabilidade emulsificante (EE)	48
4.2.9.10	Capacidade espumante (CEsp).....	49
4.2.9.11	Estabilidade da espuma (EEsp).....	49
4.3	APLICAÇÃO DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE OKARA EM SALSICHAS.....	49
4.3.1	Formulação das Salsichas.....	49
4.3.2	Produção das Salsichas	50
4.3.3	Rendimento das Salsichas	51
4.3.4	Medidas de Cor das Salsichas	51
4.3.5	Composição Química das Salsichas	51
4.3.6	Análises Microbiológicas das Salsichas	51
4.3.7	Análise Sensorial das Salsichas	52
4.3.7.1	Condições do teste e preparo das amostras	52
4.3.7.2	Teste de aceitação de atributos.....	52
4.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	53
5	REFERÊNCIAS	54
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
6.1	ARTIGO CIENTÍFICO 1	65
6.2	ARTIGO CIENTÍFICO 2.....	85
7	CONCLUSÕES	110
	ANEXOS	111
	ANEXO A – APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA ENVOLVENDO SERES HUMANOS.....	112
	ANEXO B – QUESTIONÁRIO DE RECRUTAMENTO DOS JULGADORES	113
	ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	114
	ANEXO D – FICHA DE AVALIAÇÃO	116

1 INTRODUÇÃO

Na última safra (2013/14), o Brasil produziu mais de 86 milhões de toneladas de soja, sendo a cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas três décadas e corresponde a 49% de área plantada em grãos do país. O aumento de produtividade do grão está relacionado aos avanços tecnológicos, ao clima, solo e topografia favorável, à substituição de gordura animal por óleo vegetal, ao mercado internacional, dentre outros fatores. A soja é o componente essencial na fabricação de ração animal e com uso crescente na alimentação humana (BRASIL, 2014; EMBRAPA, 2014c; USDA, 2014).

Os produtos à base de soja se tornaram populares devido aos potenciais benefícios à saúde e à demanda por alimentos para portadores de intolerância à lactose. Estima-se que aproximadamente 60% dos alimentos processados contêm ingredientes derivados da soja (LIU, 1997; HOU; CHANG, 2004a; LIU et al., 2008; SUPPAVORASATIT; LEE; CADWALLADER, 2013; EMBRAPA, 2014b).

A partir deste grão é possível obter inúmeros produtos alimentícios, como óleo de soja, isolados e concentrados proteicos, *shoyu*, *tofu* e extrato de soja. Na elaboração do extrato de soja e *tofu*, é obtido um resíduo denominado *okara*. Este material é pouco utilizado na alimentação humana, sendo destinado, sobretudo, à ração animal ou descartado como lixo (O'TOOLE, 1999; LIU, 2008).

Apesar de se tratar de um coproduto de baixo valor comercial, o *okara* possui quantidades substanciais de proteínas e fibras, provenientes dos grãos (LIU, 1997; LI; QIAO; LU, 2012). Em base seca, apresenta 42 a 58% de fibras, 15 a 33% de proteínas, 8 a 11% de lipídeos, 3 a 5% de carboidratos e 3 a 4,5% de cinzas (LI; QIAO; LU, 2012).

Nos últimos anos, muitos estudos vêm apresentando alternativas mais nobres ao aproveitamento do coproduto, aplicando-o em sistemas alimentares tanto pelo seu aporte nutricional quanto por suas propriedades tecnofuncionais (solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo, propriedades emulsificantes e espumantes) (BOWLES; DEMIATE, 2006; GRIZOTTO et al., 2012; LI; QIAO; LU, 2012; SU et al., 2013).

Sabe-se que após a colheita, a soja é transportada e armazenada até sua utilização. Durante essas atividades, a falta de controle de temperatura e

umidade relativa do ambiente resulta em alterações biológicas, químicas e físicas nos grãos, denominadas envelhecimento, que é a maior causa da perda de qualidade dos grãos (LIU, 1997). Para Kong et al. (2008) a melhor condição para preservação da qualidade da soja é ser em temperaturas menores que 22°C e umidade relativa entre 55 e 60%, que corresponde a umidade inicial nos grãos de 8 a 10%.

Grãos envelhecidos são caracterizados pela cor mais escura, alterações na estrutura anatômica do tegumento ou casca, alterações na capacidade de hidratação, maior dureza dos grãos crus e cozidos e maior acidez do tecido quando comparados com grãos recém-colhidos (SAIO et al., 1980; HOU; CHANG, 2004c; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008; ALENCAR et al., 2010; KAMIZAKE; YAMASHITA; PRUDENCIO, 2014).

Extratos de soja elaborados com grãos envelhecidos apresentam alterações, como redução em seu conteúdo proteico, menor pH e cor mais escura. *Tofus*, obtidos da coagulação das proteínas do extrato, apresentam menor rendimento, alterações nas propriedades de textura e cor, e menor aceitação em testes sensoriais (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988b; THOMAS; deMAN; deMAN, 1998; HOU; CHANG, 1998; HOU; CHANG, 2004c; KONG et al., 2008; KAMIZAKE, 2012).

O armazenamento de soja sob diversas condições também provoca efeitos negativos nas propriedades físico-químicas das proteínas, como o decréscimo na solubilidade proteica, redução na extração de glicinina e β -conglucina, além de mudanças estruturais destas subunidades, incluindo o aumento no conteúdo de ligações de hidrogênio, redução de hidrofobicidade de superfície, aumento de pontes dissulfeto, aumento no conteúdo de estrutura α -hélice e redução de β -folha. Estas alterações sugerem que proteínas tendem a um maior dobramento e agregação durante o armazenamento, podendo chegar a um estado de insolubilização (HOU; CHANG, 2004a, 2004b; LIU et al., 2008; BOM, 2013; KONG; CHANG, 2013).

As propriedades funcionais tecnológicas ou tecnofuncionais de farinhas e isolados proteicos de soja também são alteradas durante o envelhecimento. Estas têm sido representadas por alterações nas propriedades hidrofílicas, emulsificantes e espumantes (LIU et al., 2008; BOM, 2013; KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

No entanto, os estudos relacionados ao efeito do envelhecimento da soja nas propriedades tecnofuncionais de ingredientes proteicos ainda são limitados (LIU et al., 2008; BOM, 2013), e não existem estudos neste sentido com o *okara* e sua aplicação em um sistema alimentar.

Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do envelhecimento de grãos de soja sobre as propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais de farinha desengordurada de *okara* e as consequências da aplicação do coproduto em formulação de salsichas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito do envelhecimento acelerado de soja sobre as propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais de farinha desengordurada de *okara* e investigar as consequências da aplicação do coproduto em formulação de salsicha.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Envelhecer os grãos de soja por meio de método acelerado (30°C e 84% de umidade relativa por seis meses);
- Determinar composição química de grãos controle (mantido a - 18°C) e envelhecidos;
- Obter *okara* de grãos controle e envelhecidos;
- Obter farinha desengordurada de *okara* de grãos controle e envelhecidos;
- Determinar rendimento, cor, composição química e pH das farinhas desengorduradas de *okara* de grãos controle e envelhecidos;
- Determinar propriedades tecnofuncionais de farinha desengordurada de *okara* de grãos controle e envelhecidos;
- Aplicar farinha desengordurada de *okara* de grãos controle e envelhecidos por seis meses em formulação de salsichas;
- Determinar rendimento, cor, composição química, qualidade microbiológica e aceitação sensorial das salsichas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ASPECTOS GERAIS DA SOJA

As primeiras citações sobre a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] surgiram entre 2883 a 2838 a.C., quando era conhecida e consumida pela civilização oriental, sendo considerada um grão sagrado, juntamente com o arroz, trigo, cevada e milho. No Brasil, a soja foi introduzida no final do século XIX, porém, somente no ano de 1940 adquiriu importância econômica, merecendo o primeiro registro estatístico de produção no Rio Grande do Sul, com 450 toneladas de produção. Em estatísticas internacionais, o Brasil teve o seu primeiro registro em 1949, quando alcançou 25.000 toneladas de produção (EMBRAPA, 2014a).

Graças ao avanço da pesquisa, a cultura deste grão está distribuída em quase todas as regiões do Brasil, país que ocupa o segundo lugar em relação à produção mundial. Na última safra de 2013/14 foram produzidos 86,70 milhões de toneladas de soja, ficando atrás dos Estados Unidos com 91,39 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2014a; USDA, 2014). Estima-se que a taxa de crescimento anual para produção de soja no Brasil seja de 2,3%, entre as safras de 2011/12 e 2021/22, que está acima da taxa mundial, estimada em 0,84% ao ano (BRASIL, 2012).

Devido às características de qualidade nutricional da soja, o grão destaca-se no cenário mundial como uma leguminosa de grande importância sócio-econômica. Além disso, sua grande versatilidade como matéria-prima de alimentos para consumo humano e animal deve-se à sua composição química que pode variar de acordo com as condições de cultivo e da variedade, sendo em média, de 35 a 40% de proteínas, 15 a 20% de lipídeos, 30% de carboidratos, 10 a 13% de umidade e 5% de cinzas (GOLBITZ; JORDAN, 2006; PINTO; CASTRO, 2008).

O consumo de soja vem sendo relacionado a inúmeros benefícios à saúde e ganhou ainda mais atenção em 1999 quando a FDA (Food and Drug Administration), órgão de controle de alimentos dos Estados Unidos, aprovou a rotulagem de produtos comercializados no país, que contém no mínimo 6,25 g de proteínas de soja por porção e autorizou a seguinte descrição no rótulo do produto: “o consumo diário de 25 g de proteínas de soja, como parte de uma dieta pobre em gordura saturada e colesterol, pode reduzir o risco de doença cardíaca” (FDA, 1999;

AHA, 2014). No mesmo sentido, no Brasil em 2008, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) atualizou a lista de alimentos com propriedades funcionais e ou de saúde, sendo aprovada a seguinte alegação: “o consumo diário de no mínimo 25 g de proteínas de soja pode ajudar a reduzir o colesterol. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”; sendo que a quantidade de proteínas de soja contida na porção do produto pronto para consumo deve estar declarada no rótulo, próximo à alegação (BRASIL, 2008).

Ainda que as proteínas da soja sejam consideradas deficientes em aminoácidos sulfurados, o componente possui aminoácidos essenciais (isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, tirosina, treonina, triptofano, valina e histidina), requeridos para nutrição humana e animal, sendo considerado o principal componente nutritivo da soja (LIU, 2004). A soja também contém inibidores de proteases que são antinutrientes com especificidade de inibir as enzimas proteolíticas, provocando a redução da digestibilidade proteica dos alimentos. Desta forma, para aumentar o valor nutricional da soja, são necessários processamentos térmicos a fim de reduzir a atividade destes inibidores a um nível em que não ocorra o efeito antinutritivo (MONTEIRO et al., 2004).

Em comparação a outros grãos, a soja possui um elevado conteúdo de lipídeos que são classificados como lipídeos saudáveis. Aproximadamente, 50% dos lipídeos da soja são compostos pelo ácido linoleico, ácido graxo essencial que ajuda a diminuir os níveis de colesterol no sangue. Também possui 8% de ácido α -linolênico, conhecido como ω -3 e está relacionado à diminuição no risco de doenças cardiovasculares (GOLBITZ; JORDAN, 2006).

Os carboidratos da soja são divididos em dois grupos, os solúveis e insolúveis. Os carboidratos solúveis são compostos pela estaquiose, rafinose e sacarose. A estaquiose e rafinose não são digeridas pelo sistema digestório humano, sendo então, utilizados como nutrientes pela sua microbiota, como por exemplo, pelas *Bifidobacterium* (GOLBITZ; JORDAN, 2006). Quando presente, estas bactérias podem reduzir a incidência de câncer de cólon e outras desordens no intestino. Neste sentido, empresas japonesas têm utilizado estes carboidratos como suplementos e ingredientes alimentícios. Por outro lado, ao serem metabolizados pelas bactérias podem ocorrer, em alguns indivíduos, desconfortos abdominais e flatulências decorrentes da produção de gases. Já o segundo grupo, os carboidratos insolúveis, é composto pela hemicelulose, celulose e pectina, e seu consumo está

associado à redução do risco de doenças cardiovasculares e câncer (LIU, 2004; GOLBITZ; JORDAN, 2006).

Os principais minerais da soja são o potássio, sódio, cálcio, magnésio, enxofre e fósforo (LIU, 2004; GOLBITZ; JORDAN, 2006; BENASSI; PRUDENCIO, 2013; KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014). O conteúdo de minerais pode variar com o tipo de solo de plantio e as condições de crescimento do grão. Tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico e ácido fólico, são as principais vitaminas solúveis do grão. Durante o processamento de alimentos, como o *tofu*, há perda dessas vitaminas para água utilizada na produção, e apenas uma porção pode ser encontrada no produto. As vitaminas lipossolúveis presentes na soja são as vitaminas A e E. A vitamina E (tocoferol) tem importante função antioxidante, sua presença no óleo de soja diminui a velocidade de degradação lipídica (LIU, 2004; GOLBITZ; JORDAN, 2006).

A soja é o único alimento comumente consumido que contém quantidades significativas de isoflavonas (BENASSI; PRUDENCIO, 2013). Estes compostos pertencem ao grupo dos flavonóides e está ligada a prevenção de alguns tipos de câncer, à prevenção e tratamentos de doenças cardiovasculares, à ação antioxidante, à contribuição para redução do LDL, e às possíveis alternativas de terapia hormonal por mulheres atravessando a fase da menopausa (SETCHELL; CASSIDY, 1999; GOLBITZ; JORDAN, 2006).

3.2 PRODUTOS DE SOJA

No mercado de produtos de soja, a bebida extrato de soja e o *tofu* são considerados os maiores segmentos juntamente com os *snack bars* e outros produtos que são alternativas aos produtos cárneos (HEYL-RUSHMER, 2009).

O consumo do extrato tem se expandido no Ocidente, sendo que nos Estados Unidos as vendas tiveram um aumento de 61% entre os anos de 2003 e 2008 (PREPARED FOODS, 2007; HEYL-RUSHMER, 2009; SUPPAVORASATIT; LEE; CADWALLADER, 2013).

A bebida possui proteínas de alta qualidade nutricional e ácidos graxos insaturados, e como de origem vegetal não contém colesterol e lactose. Além de ser fonte de proteínas para vegetarianos ou mesmo, consumidores em geral, é um substituto do leite de vaca para a população intolerante à lactose. Possui também,

compostos biologicamente ativos, tais como as isoflavonas, polifenóis, fitatos e tocoferóis (KUO; CHEN; YEH, 2014).

De modo geral, os extratos de soja contêm de 8 a 12% de sólidos totais. A composição química média do extrato de soja é de 3,6% de proteínas, 2,0 - 3,2% de lipídeos, 2,9 - 3,9% de carboidratos e 0,5% de cinzas (LIU, 2008).

O extrato de soja tradicional, conhecido como *dou jiang* (em chinês) é produzido por meio da lavagem, maceração e trituração dos grãos, filtração da massa para separar o extrato de soja do resíduo denominado *okara*, seguido do aquecimento do extrato. Um método alternativo para produção do extrato é o procedimento utilizado pelos japoneses (“método japonês”), onde a massa obtida após a trituração é aquecida antes de ser filtrada (LIU, 1997; LIU, 2008).

Os chamados métodos modernos utilizados para elaboração do extrato de soja foram desenvolvidos com o intuito de aumentar o rendimento, melhorar a qualidade do produto e a aceitabilidade pelos consumidores de diversas culturas e, principalmente, reduzir o *beany flavor* ou sabor de feijão cru. O princípio básico para produção do extrato de soja por meio destes métodos é semelhante ao método tradicional chinês, incluindo também as etapas de lavagem, trituração, separação do resíduo (*okara*) e aquecimento. No entanto, os extratos são flavorizados, adoçados e fortificados (vitaminas e minerais), a fim de enriquecê-los nutricionalmente. Além disso, são utilizadas tecnologias de processamento como UHT (*ultra high temperature*) e embalagens assépticas, estendendo a vida de prateleira do produto final (LIU, 2008).

Muitas técnicas (escolha do cultivar do grão, trituração a quente e adição de flavorizantes) têm sido utilizadas para reduzir ou eliminar o sabor de feijão cru do extrato de soja formado durante a sua produção. Este sabor é o resultado da peroxidação de ácidos graxos poli-insaturados. Esta reação é catalisada pelas enzimas lipoxigenases e resulta na formação de vários compostos voláteis, incluindo as cetonas, aldeídos e alcoóis, sendo o hexanal o principal responsável pelo sabor de “feijão cru” (LIU, 2008; SILVA et al., 2010; SEIBEL et al., 2013). A ação desta enzima só ocorre quando os grãos são triturados/quebrados ou hidratados, uma vez que o substrato da reação não permanece exposto no grão intacto (SEIBEL et al., 2013). Sendo assim, a Embrapa Soja (integrante da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) localizada na cidade de Londrina, PR, lançou para cultivo comercial as cultivares BRS 213 e BRS 257 que não apresentam as enzimas lipoxigenases,

podendo então, ser utilizadas para processamento industrial de alimentos à base de soja com características sensoriais mais aceitáveis pelos ocidentais (SILVA; CARRÃO-PANIZZI; PRUDÊNCIO, 2009; SILVA et al., 2012).

O extrato de soja ainda pode ser considerado um produto intermediário na produção de *tofu*, que por sua vez, é obtido por meio da coagulação das proteínas do extrato, apresentando textura semelhante a um queijo branco macio ou iogurte firme. Acredita-se que o método de preparo de *tofus* tenha sido descoberto na China, se disseminado após 900 anos no Japão e em seguida em países do Extremo Oriente. Desde então, passou a ser a forma mais popular de consumo de soja como alimento nestes países. Atualmente, *tofus* são comercializados em milhares de lojas na China, Japão e outros países do Sudeste Asiático. Ademais, nos últimos anos, o *tofu* tem se tornado cada vez mais popular por todo o mundo, em decorrência do crescimento pela busca de alimentos mais saudáveis de origem vegetal. Em base úmida, possui 7,8% de proteínas, 4,2% de lipídeos e 2 mg/g de cálcio, e seu consumo vem sendo associado às substituições de queijos e carnes (LIU, 2008).

Com o aumento da produção de extrato de soja, para uso como produto final ou para produção de *tofu*, um grande volume *okara* também é gerado. Para cada quilo de soja utilizada para elaboração do extrato cerca de 1,1kg de *okara* fresco (O'TOOLE, 1999) ou 250 g de farinha seca de *okara* (PINTO; CASTRO, 2008) são gerados. Apesar de se tratar de um subproduto de baixo valor comercial, muitos dos componentes nutricionais da soja são mantidos no *okara*, sendo as proteínas e fibras os componentes majoritários. A composição química pode variar, pois depende da proporção de água:soja utilizada para elaboração do extrato, do cultivar e do método de produção (REDONDO-CUENCA; VILLANUEVA-SUÁREZ; MATEOS-APARICIO, 2008; LI; QIAO; LU, 2012). Li, Qiao e Lu (2012) em sua revisão apresentam a composição química do *okara* conforme citada na literatura (Quadro 1).

Quadro 1- Composição química do *okara* (g/100 g de matéria seca).

Proteínas	Lipídeos	Fibras	Carboidratos	Cinzas	Referências
25,4-28,4	9,3-10,9	52,8-58,1	3,8-5,3	3,0-3,7	Van der Riet et al. (1989)
15,2	8,3	42,4	4,1	3,9	Li et al. (2008)
28,5	9,8	55,5	5,1	4,5	Redondo-Cuenca, Villanueva-Suárez e Mateos-Aparicio (2008)
33,4	8,5	54,3	3,9	3,7	Mateos-Aparicio et al. (2010)

Fonte: Li, Qiao e Lu (2012).

Ainda que o *okara* seja quase que em sua totalidade destinado à alimentação animal ou descartado como lixo, muitas pesquisas tem considerado sua aplicação positiva em sistemas alimentares, tanto pelo seu aporte nutricional quanto pelas propriedades tecnofuncionais, assim deixando de ser um subproduto e passando para um coproduto (LI; QIAO; LU, 2012; STANOJEVIC et al., 2012).

3.3 PROPRIEDADES TECNOFUNCIONAIS DE OKARA

O emprego do *okara* em sistemas alimentícios depende das propriedades funcionais tecnológicas ou tecnofuncionais de seus componentes, que são definidas como qualquer propriedade físico-química de um sistema ou componente alimentar que afeta sua utilização e consumo. Assim, influencia o comportamento físico do sistema alimentar ou do componente durante o processamento, estocagem, preparo e consumo, e também as características sensoriais do alimento, especialmente a textura, além da aparência, aroma e sabor (LEE; RYU; RHEE, 2003; DAMODARAN, 2010).

As proteínas apresentam importantes propriedades tecnofuncionais. No entanto, a presença de outros componentes no sistema alimentar, como os carboidratos, lipídeos e água, que também possuem propriedades tecnofuncionais, pode influenciar a funcionalidade das proteínas (SGARBIERI, 1996; DAMODARAN, 2010).

Dados da literatura indicam que as proteínas e fibras de *okara* apresentam propriedades tecnofuncionais de interesse, como solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo, capacidade emulsificante e capacidade espumante (MA et al., 1997; CHAN; MA, 1999; GRIZOTTO et al., 2010; MATEOS-APARICIO; MATEOS-PEINADO; RUPÉREZ, 2010; FUNG; YUEN; LIONG, 2010;

VISHWANATHAN et al., 2011). Tais propriedades são fatores que atuam de forma positiva no desenvolvimento de produtos alimentícios (O'TOOLE, 1999).

3.3.1 Solubilidade

Entre as propriedades tecnofuncionais das proteínas, a solubilidade é fundamental para qualquer aplicação funcional, pois se relaciona diretamente com outras propriedades tecnofuncionais. Em geral, em sistemas alimentícios é desejável que se tenha uma alta solubilidade proteica, pois assim, poderá proporcionar boas capacidades emulsificante e espumante, formação de gel e viscosidade. Ingredientes proteicos com baixa solubilidade podem ser utilizados na produção de pães, massas em geral e alimentos semi-sólidos (GLÓRIA; REGITANO-d'ARCE, 2000; LIU, 2004; PELEGRINE; GASPARETTO, 2005).

A solubilidade é governada por fatores que influenciam o equilíbrio entre interações proteína - proteína e proteína - solvente (LIU, 2004). As interações hidrofóbicas nas proteínas (intra ou intermoleculares) resultam na diminuição da solubilidade proteica em solução, enquanto que as iônicas, entre proteínas e água, promovem o aumento de solubilidade. Para a proteína ser solúvel deve haver máxima interação com a água (DAMODARAN, 2010).

Fatores intrínsecos como a composição e sequência de aminoácidos, massa molecular, conformação da molécula e o conteúdo de aminoácidos polares e apolares, podem influenciar na propriedade em questão. Já os fatores extrínsecos que podem interferir nesta propriedade são pH, natureza e concentração de íons, força iônica, temperatura e presença de solventes orgânicos (ZAYAS, 1997; DAMODARAN, 2010).

Ma et al. (1997) estudaram o efeito do pH (2, 4, 6, 8, 10 e 12) na extração de proteínas de *okara*. Observaram que o conteúdo de proteínas extraídas foi mais elevado em pHs menores que 3 e maiores que 5, sendo que a maior extração foi encontrada em pH 2 (\approx 61,11% de proteínas) e a menor em pH 4 (\approx 2,77% de proteínas). Apesar das proteínas do *okara* sofrerem desnaturação, devido ao processo de aquecimento durante a produção do extrato de soja, seu perfil de solubilidade apresenta uma curva típica em U, similar a curva das proteínas de farelo de soja desengordurado, que também possui proteínas desnaturadas, resultantes do processo de extração do óleo.

Grizotto et al. (2010) verificaram a solubilidade das proteínas de duas farinhas de *okara*, cuja temperatura de secagem foi de 280°C, nos pHs 3, 5 e 7, sendo uma das farinhas obtida de grãos de soja descascados e a outra de grãos íntegros. Os comportamentos de ambas as farinhas foram similares aos observados normalmente em proteínas da soja, exibindo maiores solubilidades em pHs 3 e 7, e menor em pH 5. Em pH 7, ponto de maior solubilidade, as farinhas apresentaram 41,29% (*okara* obtido de grãos íntegros) e 29,81% (*okara* obtido de grãos descascados) de proteínas solúveis. As farinhas foram aplicadas em produto de panificação, e os resultados de análises físicas (espessura, diâmetro, volume e índice de expansão), fraturabilidade e atividade de água dos biscoitos produzidos com as farinhas de *okara* não diferiram dos resultados encontrados para o biscoito padrão.

3.3.2 Capacidade de Absorção e Retenção de Água e Óleo

Segundo Damodaran (2010), a capacidade de retenção de água é definida como a quantidade de líquido que é retida por uma proteína após a aplicação de pressão, filtração ou de uma força centrífuga. Está relacionada com as interações entre água - proteína ou água - alimento. Assim como a solubilidade, a capacidade de retenção de água também se relaciona com outras propriedades tecnofuncionais, como textura, viscosidade e formação de gel. O conhecimento da capacidade de retenção de água das proteínas é importante para produtos cárneos, pois afeta a textura, rendimento, produção e armazenamento, e influencia principalmente sob seu aspecto econômico e sensorial (SGARBIERI, 1996; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2006; DAMODARAN, 2010).

Vários fatores extrínsecos e intrínsecos estão envolvidos nesta propriedade, dentre eles, a concentração de proteínas da solução, pH, força iônica, temperatura, conformação da proteína e composição de aminoácidos, sendo que quanto maior o número de resíduos carregados, maior a capacidade de hidratação (TRAYNHAM et al., 2007; DAMODARAN, 2010).

Além das proteínas, as fibras de *okara* também possuem a propriedade de absorção de água, em razão da presença de componentes hidrofílicos como a celulose e hemicelulose (LI; QIAO; LU, 2012).

Ma et al. (1997) prepararam isolados proteicos de *okara* por meio de extração em duas temperaturas (25 e 80°C), e avaliaram suas propriedades funcionais. A capacidade de retenção de água foi de 4,3 e 5,1 mL/g para os isolados extraídos a 25 e 80°C, respectivamente. Estes resultados não foram diferentes de um isolado proteico de soja comercial, empregado como controle.

Grizotto et al. (2010) observaram que farinha de *okara* obtida de soja com a casca apresentou valores de 28,33, 19,74 e 22,28 g de água/g de proteínas em pHs 3, 5 e 7, respectivamente, enquanto que para farinha obtida de grão descascados foram encontrados valores de 22,03, 19,84 e 17,10 g de água/g de proteínas, respectivamente em cada pH. Segundo os autores, em pHs 3 e 7, as farinhas de *okara* obtidas de grãos com casca apresentaram as maiores capacidades de retenção de água devido a presença do hipocótilo na casa, que contém elevado teor de proteínas.

As fibras também contribuem para absorção e retenção de água. Mateos-Aparicio, Mateos-Peinado e Rupérez (2010) avaliaram as propriedades higroscópicas de fibras de *okara* (45,73% fibras totais, em base seca). Foram determinados capacidade de retenção de água e volume de intumescimento, onde os valores obtidos foram de 6,84 g/g e 9,09 mL/g, respectivamente. Fung, Yuen e Liong (2010) investigaram a capacidade de retenção de água de fibras de *okara* (12,19% de lipídeos, 31,46% de proteínas e 47,09% de carboidratos, em base seca) e de resíduo fibroso de *okara* (0,34% de lipídeos, 13,44% de proteínas e 72,84% de carboidratos, em base seca), e encontraram valores de 2,36 g/g e 6,99 g/g, respectivamente. Segundo os autores, o resíduo fibroso de *okara* apresentou maior propriedade de retenção de água, em relação à fibra de *okara*, em decorrência de variações na composição química e no processo de obtenção das amostras.

Em um estudo mais recente, Vishwanathan et al. (2011) relataram que a utilização de métodos convencionais para obtenção de concentrados proteicos podem expor as proteínas em condições, como a precipitação ácida, que afetam as propriedades funcionais destes ingredientes. Diante disto, os autores propuseram a utilização do processo de ultrafiltração para obtenção de concentrado proteico de *okara*. Além do concentrado, foram avaliadas as propriedades funcionais de farinha desengordurada de *okara*. Foi encontrado valor de 233,5 g/100 g para capacidade de absorção de água da farinha desengordurada de *okara* e um valor mais elevado para o concentrado proteico de *okara*, 357,7 g/100 g.

A capacidade de retenção de óleo é importante em formulações para massas de bolos, maionese, molhos para salada e principalmente para produtos cárneos como salsicha, mortadela e linguiça. Elevadas capacidades de retenção de óleo podem contribuir para palatabilidade e retenção de sabor em produtos emulsionados (DERGAL, 2006; SHARMA et al., 2010). Esta propriedade depende de alguns fatores, tais como: densidade (área superficial) e tamanho de partícula da amostra, concentração de proteínas, hidrofobicidade da molécula proteica, interações proteína - lipídeo - carboidrato, dentre outros (KINSELLA, 1976; ZAYAS, 1997; ELLEUCH et al., 2011).

No estudo de Ma et al. (1997), os isolados proteicos de *okara*, como citado anteriormente, foram obtidos através de duas temperaturas de extração, 25 e 80°C. As capacidades de absorção de óleo foram similares para as duas amostras, 2,9 mL/g para o isolado extraído a 25°C e 3,0 mL/g para o isolado extraído a 80°C sendo que o isolado proteico de soja comercial (amostra padrão) apresentou menor retenção de óleo, 1,5 mL/g. Os autores atribuíram estes resultados às diferentes densidades das amostras (isolado proteico de *okara* extraído a 25°C: 0,29 g/mL, isolado proteico de *okara* extraído a 80°C: 0,31 g/mL e isolado proteico de soja comercial: 0,43 g/mL), uma vez que a propriedade de retenção de óleo está relacionada ao aprisionamento físico de óleo pela matriz proteica, e amostras com maior área superficial (menor densidade) retém maior conteúdo de óleo.

Fung, Yuen e Liong (2010) determinaram a capacidade de retenção de óleo de fibra de *okara* e obtiveram valor de 1,46 g/g. Já no estudo de Mateos-Aparicio, Mateos-Peinado e Rupérez (2010) foi encontrado valor mais elevado para capacidade de retenção de óleo de *okara* liofilizado desengordurado, 3,78 g/g.

3.3.3 Propriedades Emulsificantes

Por serem moléculas anfifílicas, as proteínas possuem propriedades emulsificantes. Existem dois tipos de emulsão, óleo em água e água em óleo, sendo a primeira a mais comum em alimentos, onde ocorre a dispersão de gotículas de óleo em uma fase aquosa contínua (SGARBIERI, 1996; LIU, 2004). Estas propriedades estão relacionadas com a formação (capacidade e atividade emulsificante) e estabilidade da emulsão.

As proteínas migram espontaneamente para a interface óleo - água, onde a energia livre das proteínas é menor que na fase aquosa total. Quando ocorre esta migração, as proteínas são capazes de formar uma película altamente viscoelástica conferindo resistência à coalescência das partículas da emulsão durante a estocagem e manipulação, o que não ocorre quando são utilizados surfactantes de baixo peso molecular. Por isso, as proteínas são muito utilizadas para estas finalidades (DERGAL, 2006; DAMODARAN, 2010).

A propriedade surfactante está relacionada à conformação molecular e habilidade das proteínas de se desdobrarem na interface. Estas, por sua vez, são determinadas por vários fatores, dentre eles, flexibilidade, estabilidade conformacional e distribuição de resíduos hidrofóbicos e hidrofílicos na superfície proteica. Os fatores externos envolvidos são pH, força iônica, temperatura e a possível competição de outras proteínas ou lipídeos que podem ser adsorvidos na interface (MOURE et al., 2006; DAMODARAN, 2010).

Ma et al. (1997) avaliaram as propriedades emulsificantes de dois isolados proteicos de *okara*: PI25° (isolado proteico extraído a 25°C) e PI80° (isolado proteico extraído a 80°C). Foi observado que a temperatura de extração das proteínas exerceu influencia sobre as atividades e estabilidades emulsificantes dos isolados, onde a amostra tratada com a temperatura mais elevada (PI80°) apresentou aproximadamente 85% da atividade emulsificante e 56% da estabilidade emulsificante encontradas na amostra PI25°. Segundo os autores, o tratamento térmico realizado na amostra PI80° pode ter prejudicado as propriedades emulsificantes das proteínas, em decorrência da desnaturação proteica.

Grizotto et al. (2010) analisaram as propriedades emulsificantes de duas amostras de farinhas de *okara* provenientes de processamentos e indústrias diferentes. Um *okara* foi elaborado com grãos de soja íntegros (com casca) e o outro com grãos de soja descascados, o que determinou a quantidade e qualidade proteica das farinhas. A farinha elaborada com grãos íntegros apresentou as melhores propriedades emulsificantes, onde os valores obtidos foram de 339,4 mL de óleo/g de proteína para capacidade emulsificante e 92,56% para estabilidade emulsificante, ao passo que a farinha obtida de grãos descascados apresentou 89,0 mL de óleo/g de proteína para capacidade emulsificante e 38,78% para estabilidade emulsificante. Apesar do hipocótilo, presente na casca, representar apenas 2% do peso do grão, esta parte do embrião, além de possuir um elevado conteúdo proteico

(40%), é composto por proteínas de excelente qualidade tecnológica que podem ter sido suficientes para obtenção de melhores resultados da capacidade e estabilidade emulsificantes da farinha elaborada com os grãos íntegros.

Fung, Yuen e Liong (2010) avaliaram as propriedades emulsificantes de duas amostras de *okara*, fibras de *okara* (12,19% de lipídeos, 31,46% de proteínas e 47,09% de carboidratos, em base seca) e resíduo fibroso de *okara* (0,34% de lipídeos, 13,44% de proteínas e 72,84% de carboidratos, em base seca). A atividade emulsificante encontrada para a fibra de *okara* foi de 66,3%, enquanto que para o resíduo fibroso de *okara*, o valor obtido foi de 14,0%. Esta ampla variação nos resultados foi justificada pelo conteúdo de proteínas. Por outro lado, os resultados da estabilidade emulsificante foram similares, 99,3 e 96,0% para fibra de *okara* e resíduo fibroso de *okara*, respectivamente.

Vishwanathan et al. (2011) encontraram valores para capacidades emulsificantes de 32,20 mL/g e 44,10 mL/g em farinha desengordurada de *okara* e concentrado proteico de *okara*, respectivamente. Estes valores foram inferiores ao encontrado em isolado proteico de soja comercial (53,40 mL/g), utilizado como padrão. As variações nos resultados foram justificadas pelas diferenças no conteúdo proteico e métodos de preparo das amostras, além disso, o isolado proteico de soja apresentou maior solubilidade das proteínas, o que pode ter colaborado para melhor capacidade emulsificante.

3.3.4 Propriedades Espumantes

As espumas consistem de uma fase aquosa contínua e uma fase dispersa gasosa (ar) (DERGAL, 2006). A capacidade de formação de espuma das proteínas refere-se à expansão de volume da dispersão proteica através da incorporação de ar por batimento, agitação ou aeração (SGARBIERI, 1996). As proteínas formam uma película fina e resistente na interface gás - líquido permitindo que as bolhas de gás possam ser incorporadas e estabilizadas. Já a estabilidade da espuma se refere à retenção do volume máximo de espuma formada em função do tempo de repouso (SGARBIERI, 1996). Nas indústrias alimentícias, as proteínas são largamente utilizadas para estas finalidades, sendo aplicadas em merengues, musses, coberturas cremosas, sorvetes, bolos, suflês e *marshmallows* (LIU, 2004; DAMODARAN, 2010).

As propriedades espumantes dependem da natureza e concentração proteica, solubilidade, estado de desnaturação proteica e da presença de sais, açúcares e lipídeos (SGARBIERI, 1996; LIU, 2004; DAMODARAN, 2010).

Ma et al. (1997) determinaram as propriedades espumantes de dois isolados proteicos de *okara* resultantes de extrações realizadas em diferentes temperaturas (25 e 80°C). O isolado proteico extraído a 25°C apresentou as melhores propriedades espumantes, 375% de capacidade espumante (*over-run*) e 27,1 minutos de estabilidade da espuma. Já o isolado obtido sob 80°C apresentou 330% de capacidade espumante (*over-run*) e 20,2 minutos de estabilidade espumante. Estes resultados ainda foram superiores aos encontrados em um isolado proteico de soja comercial, utilizado como padrão (240% (*over-run*) e 4,3 minutos de estabilidade espumante). Segundo os autores, as proteínas de *okara* podem ter conformações mais apropriadas do que as proteínas do isolado comercial e que favoreceram as propriedades espumantes.

Considerando-se que as proteínas de *okara* desnaturam durante a produção de extrato de soja, Chan e Ma (1999), mediante a hidrólise ácida, promoveram melhorias nas propriedades espumantes das proteínas do coproduto. Os autores obtiveram quatro amostras, três modificadas em diferentes concentrações de HCl (0,01, 0,1 e 0,3 N) e uma controle (sem tratamento ácido). Os valores para capacidade espumante variaram de 83 a 189%, sendo que a modificação ácida das proteínas levou a um aumento progressivo desta propriedade e o menor valor foi observado para amostra controle. O tratamento ácido aumentou a solubilidade das proteínas de *okara*, o que pode ter contribuído para o aumento da capacidade espumante das amostras modificadas. Por outro lado, foi observado um efeito inverso na estabilidade espumante, provavelmente em decorrência do aumento de solubilidade das proteínas, onde ocorreu um decréscimo de interações proteína - proteína impedindo a formação de um filme coeso na interface ar - água.

3.4 APLICAÇÃO DE OKARA EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

Na literatura podem ser encontrados alguns exemplos da aplicação do *okara* em produtos alimentícios, tais como macarrão (LU; LI, 1998 apud LI; QIAO; LU, 2012), tortilha de milho (WALISZEWSKI; PARDIO; CARREON, 2002), nugá (*nougat*) (GENTA et al., 2002), torta (WANG; WANG, 2003 apud LI; QIAO; LU,

2012), pão (WICKRAMARATHNA; ARAMPATH, 2003; BOWLES; DEMIATE, 2006; SUDA et al., 2007; CANTUÁRIA et al., 2008; RIBEIRO; MIGUEL, 2010), bolo (WU, 2003 apud LI; QIAO; LU, 2012; ZHANG, 2007 apud LI; QIAO; LU, 2012), linguiça (HUANG et al., 2004 apud LI; QIAO; LU, 2012; MANNIE, 2006), cereal matinal (SANTOS; BEDANI; ROSSI, 2004), carne moída e ravióli de queijo (MANNIE, 2006), biscoito (CAVALHEIRO et al., 2001; LAROSA et al., 2006; MANNIE, 2006; WU et al., 2006 apud LI; QIAO; LU, 2012; CUNHA et al., 2007; ZHAO; KONG, 2009 apud LI; QIAO; LU, 2012; AGUADO, 2010; GRIZOTTO et al., 2010; SEIBEL et al., 2012), panqueca (SUDA et al., 2007; AGUADO, 2010), barra alimentícia (CUNHA et al., 2010), *muffin* (AGUADO, 2010), hambúrguer (SANTOS; MIGUEL; LOBATO, 2010; BOMDESPACHO et al., 2011; YAMAGUCHI et al., 2011; YOSHIDA; SEIBEL, 2011; SU et al., 2013), biscoito de polvilho (CERVANTES; AOKI; ALMEIDA, 2011) e salsicha (GRIZOTTO et al., 2012).

3.4.1 Salsicha: Uma Opção para o Emprego do *Okara*

Pesquisas do IBGE indicam que com o aumento do poder aquisitivo da população brasileira, aumentou também o consumo de carnes. Dentre os produtos cárneos mais vendidos, destaca-se a salsicha, principalmente devido ao crescimento do consumo de cachorro-quente (GUERREIRO, 2006).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2000), entende-se por salsicha o produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado. Dos requisitos da composição da salsicha, é permitido um máximo de 2% de amido, 7% de carboidratos totais, 65% de umidade e 30% de gordura, e um mínimo de 12% de proteínas, sendo permitida a adição de no máximo 4% de proteínas não cárnicas, como proteína agregada.

A emulsão cárnea envolve um sistema complexo, no qual a fase dispersa é constituída por partículas de gordura, fibras musculares, aditivos e farináceos, e a fase contínua é constituída por água, sal, proteínas hidrossolúveis e outros elementos solúveis (OLIVO, 2006).

A produção de salsichas exige uma grande variedade de ingredientes cárneos e não cárneos, onde cada um exerce uma função específica de acordo com sua propriedade. São utilizados ingredientes obrigatórios (carnes de diferentes espécies) e opcionais (miúdos e vísceras comestíveis, gordura animal ou vegetal, água, proteína vegetal ou animal, agentes de liga, aditivos, açúcares, aromas, especiarias e condimentos), estes últimos são responsáveis por melhorias no sabor, aroma e textura (BRASIL, 2000; GUERREIRO, 2006).

A carne, um dos principais ingredientes, fornece um alto conteúdo de proteínas que são essenciais para formação de uma massa homogênea e estável (emulsão). Devido à alta capacidade de ligar água e gordura, as proteínas das carnes são consideradas pela indústria como agente ligante (GUERREIRO, 2006).

A carne mecanicamente separada (CMS) é a carne retirada a partir de ossos, carcaças ou partes de carcaças, com exceção dos ossos da cabeça, submetidos à separação mecânica e imediatamente congelada. Pode ser utilizada em um limite máximo de 60% na formulação (BRASIL, 2000).

A água é o agente fundamental de textura, auxilia a distribuição dos aditivos e demais ingredientes durante a formação da massa e influencia diretamente no rendimento das salsichas (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002; OLIVO, 2006).

O sal, além de proporcionar sabor, contribui para solubilização das proteínas miofibrilares das carnes. Os estabilizantes, polifosfatos, por elevarem o pH, tem ação sinérgica ao sal, potencializando a solubilização das proteínas e aumentando a capacidade de retenção de água das mesmas, o que contribui para suculência e textura da salsicha. Por esta razão, recomenda-se que todo o sal da formulação seja adicionado nos estágios iniciais da emulsão (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002; GUERREIRO, 2006).

O açúcar também é utilizado tradicionalmente em produtos embutidos com a finalidade de abrandar o sabor do sal e dos polifosfatos (GUERREIRO, 2006).

O toucinho contribui para palatabilidade da salsicha, conferindo características desejáveis de suculência, sabor e aroma (GUERREIRO, 2006; SHIMOKOMAKI et al., 2006).

Os antioxidantes retardam ou previnem as reações oxidativas e evitam a rancidez e alterações de cor, aumentando a vida de prateleira da salsicha. O lactato de sódio (proveniente do ácido láctico) é utilizado em produtos cárneos como

agente antimicrobiano, visando também, o aumento da validade comercial das salsichas (GUERREIRO, 2006; GARCIA et al., 2012).

Os sais de cura (nitrito e nitrato de sódio) são responsáveis por fornecer a coloração vermelha, conferir aroma e sabor característicos da salsicha e por inibir e retardar o crescimento de micro-organismos. O corante (carmim e urucum) também atribui cor a salsicha, sendo que sua principal funcionalidade é garantir melhor aparência ao produto, proporcionando estabilidade de cor, além de corrigir eventuais alterações durante o processo de fabricação (GUERREIRO, 2006; GARCIA et al., 2012).

O amido é um dos enchedores mais empregados na formulação de produtos cárneos devido a sua capacidade de formar gel e ligar água, auxiliando de forma positiva sobre as características de corte, além de contribuir para o rendimento das salsichas durante a cocção (PARDI et al., 1995 apud DAGUER et al., 2011; GUERREIRO, 2006).

As proteínas, em suas diferentes formas, leite em pó ou produtos derivados da soja, são ingredientes importantes utilizados na elaboração de emulsões de produtos embutidos por possuírem propriedades como retenção de água e óleo, que contribuem para textura e rendimento de produtos. Além disso, são ingredientes que possuem custo relativamente mais baixo quando comparados às proteínas da carne (GUERREIRO, 2006; OLIVO, 2006).

Grizotto et al. (2012) apresentaram uma alternativa para o aproveitamento de *okara* por meio de sua aplicação em formulações de salsichas tipo Frankfurter, como substitutos (parcial e total) da proteína texturizada de soja (PTS) comercial. Os pesquisadores elaboraram salsichas com 1,5 e 4,0% de farinha de *okara*, além da formulação padrão, com 4,0% de PTS. Os resultados mostraram que a aplicação do novo ingrediente nas salsichas provocou algumas alterações nas características físicas e químicas dos produtos, no entanto, estas alterações não prejudicaram a sua qualidade sensorial, independente do conteúdo substituído, apresentando a mesma aceitação (teste sensorial de aceitação) da amostra padrão. Também foi aplicado o teste de intenção de compra, onde a maioria dos julgadores provavelmente ou certamente comprariam as salsichas com 1,5% de farinha de *okara*.

Assim, a farinha de *okara*, devido ao seu conteúdo proteico (15 - 33 g/100 g de matéria seca), é uma opção de ingrediente proteico não cárneo para fabricação de salsicha, respeitando-se o limite preconizado pela legislação.

3.5 ARMAZENAMENTO E ENVELHECIMENTO DA SOJA

Após a colheita, a soja segue para o transporte e armazenamento até o momento de sua utilização para produção de alimentos. Durante o transporte, que pode durar de semanas a meses, a temperatura e umidade do ambiente são difíceis de serem controladas, podendo ocasionar a deterioração dos grãos em decorrência das variações climáticas. Em países com clima predominante tropical, como no Brasil e países do Sul e Sudeste da Ásia, onde a média anual de temperatura é de 27°C e umidade relativa (UR) de 80%, o armazenamento em condições ambientais e sem controle, por longos períodos, também pode ser prejudicial para a manutenção da qualidade de grãos (KONG et al., 2008).

O Brasil possui grande potencial para produção agrícola, porém as perdas de grande parte desta produção ocorrem em função de deficiências em infraestrutura, como a falta de unidades de secagem e armazenamento e suas inadequações, indicando a necessidade de maior conhecimento sobre a conservação de grãos (FAO, 2012; ABRAPÓS, 2014; REGITANO D'ARCE, 2014).

Se os locais de armazenamento de grãos forem tecnicamente deficientes, podem facilitar ataques de insetos, roedores e fungos. Além disso, a secagem inadequada dos grãos pode estimular o metabolismo dos próprios grãos, consumindo substâncias de reservas, provocando deteriorações e reduzindo sua qualidade. A umidade relativa e temperatura ambiente elevada podem potencializar esses efeitos (ALENCAR; FARONI, 2011; LIU; CHANG, 2012). Para Kong et al. (2008) a melhor condição para preservação da qualidade da soja deve ser temperatura < 22°C e UR entre 55 e 60%, que corresponde a umidade inicial nos grãos de 8 a 10%.

O tempo de armazenamento da soja pode durar de meses a anos, variando em função dos fluxos de oferta e demanda, e de outros fatores. Durante este período, ocorrem alterações biológicas, químicas e físicas nos grãos, com perdas quantitativas, qualitativas, nutricionais e de sanidade, reduzindo seu valor comercial e de qualidade como matéria-prima para processamento de alimentos.

Estas alterações são denominadas envelhecimento dos grãos (HOU; CHANG, 2004c; ALENCAR; FARONI, 2011; LIU; CHANG, 2012).

O grão de soja, como sementes de outras plantas, é um tecido vivo que respira durante o armazenamento. A taxa de respiração é influenciada pela temperatura e umidade relativa do ambiente, sendo que quanto mais elevados estes parâmetros maior será a taxa de respiração, acelerando o envelhecimento (LIU, 1997), porém com o tempo há a degradação do sistema respiratório (YOUSIF; KATO; DEETH, 2007).

O mecanismo de envelhecimento é complexo e ainda não está bem elucidado. Durante o envelhecimento ocorrem muitos eventos biológicos, bioquímicos, químicos e físicos nos grãos (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a, 1988b; LIU, 1997; KONG et al., 2008). Acredita-se que o envelhecimento inicia-se com a peroxidação dos lipídeos das membranas celulares resultando na alteração ou perda de sua integridade. Com a desorganização das membranas celulares há perda de compartimentalização e descontrole do metabolismo (MARCOS FILHO, 1999; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008). Diversas reações enzimáticas e não enzimáticas podem ocorrer durante o envelhecimento levando a alteração nos grãos (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a; LIU, 1997; HOU; CHANG, 1998).

Os grãos envelhecidos de leguminosas são caracterizados pela cor mais escura, alterações na estrutura anatômica do tegumento ou casca, alterações na capacidade de hidratação, maior dureza dos grãos crus e cozidos e maior acidez do tecido quando comparados com grãos recém-colhidos. Essas alterações podem ocorrer em diferentes graus dependendo da qualidade inicial do grão (umidade dos grãos maior que 10%, grãos quebrados, cascas soltas, presença de fissuras ou trincas, dentre outros), condições do ambiente de armazenamento (UR menores que 55% e maiores que 60%, temperaturas maiores que 22°C e períodos maiores que um ano) e também da própria espécie e cultivar do grão. Ressalta-se que estas alterações nos grãos podem refletir em prejuízos de qualidade de seus produtos (SAIO et al., 1980; KONG et al., 2008; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008; ALENCAR; FARONI, 2011; KAMIZAKE, 2012; BOM, 2013; YOUSIF, 2014b).

A aparência dos grãos é considerada um fator crítico e decisivo no processo de comercialização. A cor tem sido utilizada como um indicador de qualidade, sendo que a mudança deste parâmetro é considerada um indicativo de alterações físicas, químicas e/ou biológicas dos grãos (ALENCAR; FARONI, 2011).

Saio et al. (1980) investigaram as variações na cor de grãos de soja em função do tempo de armazenamento (dois, quatro e seis meses) sob várias condições de temperatura e umidade relativa (25 e 35°C, 60 e 90% UR). Os autores observaram um escurecimento significativo dos grãos ao longo do tempo de armazenamento, que passaram da cor amarela para marrom/castanho, além de um decréscimo pronunciado da luminosidade (Y) dos grãos que foram armazenados em umidade mais elevada. Hou e Chang (2004c) observaram o escurecimento (redução do parâmetro L) e a mudança no parâmetro amarelo (b) para vermelho (a) em grãos de soja armazenados a 84% UR e 30°C por nove meses, mas não observaram alterações em grãos armazenados a 86% UR a 3 - 4°C e 57% UR a 20°C. Kong et al. (2008) notaram comportamento semelhante em grãos de soja armazenado em diferentes condições. Kamizake, Yamashita e Prudencio (2014) também verificaram variações na cor de grãos de soja de duas cultivares, BRS 267 e Coodetec 214, armazenadas em duas condições, envelhecimento natural (17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por 18 meses) e acelerado (30°C e 84% de UR por nove meses). Foi observado que independente das condições de armazenamento ou da cultivar, houve um decréscimo nos valores de luminosidade (L^*) e tonalidade cromática (h°), indicando que os grãos se tornaram mais escuros e vermelhos após o armazenamento. Esta mudança de cor tem sido atribuída às reações de *Maillard* (HOU; CHANG, 1998) e principalmente, ser o resultado da reação de oxidação de substratos fenólicos pela ação da polifenoloxidase e monooxigenase levando a formação de compostos escuros (NOZZOLILLO; BEZADA, 1984; REYS-MORENO; PAREDES-LÓPEZ, 1993; YOUSIF, 2014a).

O escurecimento influencia diretamente a qualidade e aceitabilidade de produtos de soja tais como extrato de soja e *tofu*, que quando obtidos de grãos envelhecidos, também se apresentam mais escuros (THOMAS; deMAN; deMAN, 1989; HOU; CHANG, 2004c; KONG et al., 2008; KAMIZAKE, 2012; LIU; CHANG, 2012). O escurecimento de *tofus* tem sido identificado através de medida instrumental, observado pelo decréscimo da luminosidade (L^*) (HOU; CHANG, 2004c; KONG et al., 2008; KAMIZAKE, 2012; LIU; CHANG, 2012), bem como por meio de medida sensorial, evidenciado pela intensificação da cor cinza (KAMIZAKE, 2012). O escurecimento de extratos de soja e *tofu* está relacionado à extração de compostos escuros (melaninas, melanoidinas e polifenóis) dos grãos, formados durante o envelhecimento (NOZZOLILLO; BEZADA, 1984; KAMIZAKE, 2012).

Estudos têm mostrado alterações morfológicas nas cascas e nos cotilédones de grãos de soja envelhecidos. Silva, Vieira e Santos (2008) observaram, por meio de eletromicrografias de varredura (MEV), redução da espessura das camadas das células paliçádicas, hipodérmicas e parenquimáticas da casca de grãos de soja envelhecidos em períodos de 48, 72 e 96 horas de armazenamento a 42°C, porém no tempo de 24 horas não foi observada esta redução. A redução da espessura destas camadas sugere a ocorrência de um colapso das células que as compõem, sendo tal colapso um dano físico as células e conseqüentemente à casca. Ao contrário de Silva, Vieira e Santos (2008), Kamizake, Yamashita e Prudencio (2014) utilizando a mesma técnica, não observaram alterações nas células das cascas de grãos de duas cultivares de soja em função de duas condições de envelhecimento (natural: 17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por dezoito meses; e acelerado: 30°C e 84% UR por nove meses). No entanto, os autores observaram mudanças na superfície de células paliçádicas dos cotilédones, que se mostraram murchas e rugosas, enquanto que em grãos recém-colhidos, a superfície era lisa. Para os pesquisadores estas alterações podem ser consequência da perda de água e eletrólitos pelos grãos devido às alterações químicas, tais como reações de hidrólise e oxidação lipídica, que levam ao aumento de acidez e subsequente ruptura das membranas celulares.

Alterações morfológicas no tegumento podem levar a diferentes conseqüências, tendo em vista que o tegumento é responsável por regular o processo de absorção de água pelos grãos. As características morfológicas do tegumento e sua espessura podem influenciar a permeabilidade, quanto menor a espessura, maior a permeabilidade do tegumento, uma vez que a água tem menor distância a percorrer, tornando rápida a hidratação dos cotilédones (CAVARIANI et al., 2009; MERTZ et al., 2009). Kamizake, Yamashita e Prudencio (2014) notaram que após o envelhecimento das duas cultivares de soja em diferentes condições de armazenamento, houve aumento da taxa de sorção de água pelos grãos e redução da umidade de equilíbrio.

As alterações morfológicas da casca e dos cotilédones que ocorrem durante o armazenamento podem gerar conseqüências no processamento de alimentos a partir de soja envelhecida. Por exemplo, durante a maceração de grãos para elaboração de extrato de soja e *tofu*, Kong et al. (2008) notaram um decréscimo

de água absorvida pelos grãos envelhecidos (65% UR e 40°C, 75% UR e 30°C e 80% UR e 40°C; no tempo de quatro a dez meses).

O endurecimento de grãos envelhecidos tem sido relatado em alguns estudos. Narayan, Chauhan e Verma (1988a) notaram aumento de dureza em grãos crus armazenados em condições ambientais (16 a 40°C e 50 a 90% UR) por 1, 2, 3 e 9 anos. Em um estudo mais recente, Kamizake, Yamashita e Prudencio (2014) observaram que mesmo após a maceração e cozimento de soja envelhecida (envelhecimento natural: 17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por dezoito meses; e acelerado: 30°C e 84% UR por nove meses), os grãos se apresentaram mais duros, em relação aos grãos recém-colhidos macerados e cozidos, seguindo a mesma tendência observada para grãos crus (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a). O endurecimento de grãos pode estar relacionado às mudanças químicas nas proteínas e lipídeos da soja durante o armazenamento (KAMIZAKE; YAMASHITA; PRUDENCIO, 2014), bem como à polimerização de compostos fenólicos em polímeros fenólicos de alto peso molecular que formam ligações cruzadas com proteínas e carboidratos (HINCKS; STANLEY, 1987; GARCIA-VELA; STANLEY, 1989 apud KAMIZAKE; YAMASHITA; PRUDENCIO, 2014, YOUSIF, 2014a). Estas alterações são manifestadas no grão cozido e devido ao fato do grão envelhecido não atingir o amaciamento, é necessário um maior tempo de cozimento em relação ao utilizado para grãos recém-colhidos (LIU, 1995; KAMIZAKE; YAMASHITA; PRUDENCIO, 2014).

Há diversos relatos sobre o aumento de acidez nos tecidos de grãos envelhecidos. Narayan, Chauhan e Verma (1988a) notaram aumento no conteúdo de ácidos graxos livres e no valor de peróxidos em soja armazenada em condições ambientais (16 a 40°C e 50 a 90% UR) por 1, 2, 3 e 9 anos. Hou e Chang (1998) observaram o aumento de acidez titulável em grãos de soja envelhecidos a 30°C e 85% UR por 60 dias. Kamizake, Varéa e Prudencio (2014) observaram a diminuição de pH e aumento de acidez titulável de duas cultivares de soja, Coodetec 214 e BRS 267, envelhecidas em duas condições (envelhecimento natural: 17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por dezoito meses; e acelerado: 30°C e 84% UR por nove meses). Este mesmo comportamento foi observado por Thomas, deMan e deMan (1989) e Kong et al. (2008) em extratos de soja elaborados com grãos envelhecidos em diferentes condições (20°C e 65% UR, 20°C e 85% UR, 30°C e 65% UR e 30°C e 85% UR, por oito meses, e de 22 a 50°C e 55 a 70% UR em um período de até 15 meses,

respectivamente). O aumento de ácidos graxos livres ocorre pelas reações hidrolíticas de triacilgliceróis e os valores de peróxidos aumentam em decorrência da oxidação de ácidos graxos insaturados (ZADERNOWSKI; NOWAK-POLAKOWSKA; RASHED, 1999; ARAÚJO, 2011). Os compostos formados (ácidos graxos livres e ácidos orgânicos) por estas reações são responsáveis pelo aumento de acidez no tecido do grão, que pode conduzir a alterações moleculares como a desnaturação e/ou agregação das proteínas e conseqüentemente redução de sua solubilidade e extração (SAIO; KOBAYAKAWA; KITO, 1982; HOU; CHANG, 2004a, 2004b).

Alguns autores, verificaram alterações nas moléculas proteicas durante o armazenamento de soja sob diversas condições, como o aumento no conteúdo de ligações de hidrogênio, redução de hidrofobicidade de superfície, aumento de pontes dissulfeto, aumento no conteúdo de estrutura α -hélice e redução de β -folha, sugerindo que as proteínas tendem a um maior dobramento e agregação durante o armazenamento, podendo chegar a um estado de insolubilização (HOU; CHANG, 2004a, 2004b; BOM, 2013; KONG; CHANG, 2013).

Extratos de soja produzidos com grãos envelhecidos apresentam menor conteúdo de proteínas (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988b; THOMAS; deMAN; deMAN, 1989; HOU; CHANG, 1998; KONG et al., 2008). A produção de *tofu* também é prejudicada, pois uma vez que este produto é formado por um gel proteico, a quantidade e qualidade das proteínas do extrato de soja influenciam diretamente na qualidade e rendimento de *tofus* (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988b; HOU; CHANG, 1998, 2004c; KONG et al., 2008; KAMIZAKE, 2012).

A deterioração na qualidade de *tofus* tem sido relacionada às alterações em suas propriedades de textura e a sua baixa aceitação em testes sensoriais, podendo variar de acordo com as condições de armazenamento dos grãos e métodos de preparo do *tofu* (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988b; HOU; CHANG, 1998, 2004c; KONG et al., 2008; KAMIZAKE, 2012).

Hou e Chang (2004c) notaram um decréscimo no rendimento de *tofus* elaborados com grãos envelhecidos em condições de 30°C e 84% UR por sete meses, que passou de 512 g/100 g de grãos (controle) para 71 g/100 g de grãos (sete meses de armazenamento). Kong et al. (2008) relataram que o rendimento de *tofus* elaborados a partir de grãos envelhecidos em condição de 55% UR e 50°C por dez meses, diminuiu de 515 g/100 g de soja (controle) para 100 g/100 g de soja, e em condições de 70% UR a 40°C e 65% UR a 40°C, os rendimentos passaram de

aproximadamente 498 g/100 g de soja (controle) para 100 g/100 g de soja. Segundo os autores, estas condições não são aplicáveis para produção de *tofu*. Kamizake (2012) também observou esta tendência para o rendimento de *tofus* elaborados com grãos envelhecidos sob 30°C e 84% UR por nove meses, que foi justificada pela desnaturação e redução da solubilidade e extração das proteínas dos grãos.

A partir dos relatos sobre o decréscimo na extração de proteínas para os extratos de soja e subsequente diminuição no rendimento de *tofus*, pesquisadores passaram a investigar quais eram as mudanças nas estruturas das proteínas que pudessem estar relacionadas com a perda de qualidade desses produtos.

O decréscimo na extração de proteínas (glicinina e β -conglucina) de grãos de soja armazenados sob condições adversas (30°C, 84% UR, nove meses) foi observado nos estudos de Hou e Chang (2004a, 2004b). Houve um decréscimo acentuado no rendimento de extração da glicinina (11S), que passou de 14,6% (amostra controle, - 18 a - 20°C) para 0,05%, após o oitavo mês. O mesmo comportamento foi observado para a β -conglucina (7S), onde o rendimento da extração proteica passou de 12,59% (amostra controle) para 0,19%, após nove meses. Segundo os pesquisadores, estes resultados indicaram que as duas frações proteicas da soja desnaturaram durante o armazenamento.

Análise eletroforética das proteínas (7S e 11S) de grãos envelhecidos sob diversas condições (60, 65, 70, 75 e 80% UR e 22, 30 e 40°C), por até um ano, mostraram que em condições adversas, as proteínas se agregam extensivamente podendo alcançar um estado de insolubilização. As principais forças envolvidas, responsáveis por esta agregação, são as interações hidrofóbicas e as pontes dissulfeto. Isto explica o decréscimo de proteínas extraídas para o extrato de soja. E para o *tofu*, o aumento de interações proteína-proteína resulta em uma baixa capacidade de absorção de água e menor habilidade para formação da rede proteica durante a produção de *tofu*, que conseqüentemente, diminui seu rendimento (KONG; CHANG, 2013).

Kamizake, Varéa e Prudencio (2014) observaram redução da solubilidade proteica (em água e em diferentes pHs, 2 a 12) de grãos armazenados em diferentes condições (envelhecimento natural: 17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por dezoito meses; e acelerado: 30°C e 84% UR por nove meses). Os autores relacionaram este comportamento às alterações nas moléculas proteicas causadas

pelo aumento de acidez nos tecidos de grãos durante o armazenamento. Por meio de análise eletroforética, os autores também notaram um decréscimo das frações proteicas (7S e 11S) de soja envelhecida por oito e nove meses sob condições de 30°C e 84% UR. Segundo os autores, este comportamento pode estar relacionado à diminuição de solubilidade proteica, em decorrência de uma possível desnaturação das proteínas.

Alguns estudos tem avaliado o efeito do envelhecimento da soja sobre as propriedades funcionais de farinhas e isolados proteicos.

Liu et al. (2008) identificaram decréscimo na solubilidade proteica (em água) de farinha integral, farinha desengordurada e isolado proteico de soja, obtidos de grãos envelhecidos em condições adversas (88% UR a 30°C por oito meses). Para todas as amostras, as solubilidades das proteínas tiveram um decréscimo de aproximadamente 69% aos oito meses de armazenamento.

Kamizake, Varéa e Prudencio (2014) observaram redução na capacidade de absorção e retenção de água de farinhas integrais de soja envelhecida em condições de 30°C e 84% UR por nove meses.

Liu et al. (2008) observaram menores atividades emulsificantes, em diferentes pHs (5,8, 7,0, 7,6 e 8,0), em isolados proteicos obtidos de soja envelhecida (88% UR a 30°C por oito meses). Já as estabilidades emulsificantes destas amostras apresentaram variações, mostrando dependência do pH da emulsão.

Bom (2013) avaliou as propriedades tecnofuncionais de farinhas desengorduradas de soja obtidas de duas cultivares (Coodetec 214 e BRS 267) de grãos armazenados em diferentes condições (envelhecimento natural: 17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por dezoito meses; e acelerado: 30°C e 84% UR por nove meses). A solubilidade proteica das farinhas foi reduzida com envelhecimento, em decorrência da desnaturação parcial das proteínas provocadas pelo aumento de acidez nos tecidos dos grãos durante o armazenamento. Foi observado um aumento na capacidade de absorção de água das farinhas obtidas da cultivar Coodetec 214 para as duas condições de armazenamento e redução para as farinhas obtidas da cultivar BRS 267 somente para o envelhecimento natural. Por outro lado, não foram observadas variações para a capacidade de absorção de óleo.

Ainda no mesmo estudo, foi notado um decréscimo na capacidade emulsificante da farinha desengordurada obtida da cultivar Coodetec 214 para as

duas condições de envelhecimento. Já para a farinha desengordurada de soja da cultivar BRS 267, a capacidade emulsificante diminuiu no envelhecimento acelerado. A estabilidade emulsificante aumentou para as farinhas desengorduradas obtidas de ambas as cultivares no envelhecimento acelerado. Também foi observado um decréscimo nas propriedades espumantes destas farinhas.

A literatura não apresenta estudos do efeito do envelhecimento da soja sobre o rendimento, propriedades físicas, químicas e tecnofuncionais e aplicação de *okara* em alimentos. Somente em 1989, Thomas, deMan e deMan, notaram que em razão do decréscimo de proteínas extraídas nos extratos de soja, havia um aumento no conteúdo de proteínas no *okara*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Os grãos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] convencionais da cultivar BRS 257, isenta das enzimas lipoxigenases L1, L2 e L3, foram fornecidas pela SL Alimentos. São pertencentes à safra de 2012/13 e cultivados na região de Mauá da Serra, Paraná, Brasil.

Os reagentes utilizados foram de grau analítico e os óleos de soja comerciais foram da marca Coamo, lote 43023.

Para produção das salsichas, a paleta suína, toucinho, açúcar e sal foram adquiridos em mercado local. Os polifosfatos de sódio, antioxidante e fixador de cor, sais de cura e condimento para salsicha eram da marca Griffith e o lactato da Nutrabem. A carne mecanicamente separada (CMS), aroma de fumaça líquida e corante carmim foram fornecidos pela Frios Fattoria e a proteína isolada de soja pela Solae™.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Envelhecimento Acelerado de Soja

Foi realizado o envelhecimento dos grãos de soja pelo método denominado acelerado, baseando-se nos estudos de Hou e Chang (2004c), Kamizake, Yamashita e Prudencio (2014) e Kamizake, Varéa e Prudencio (2014). Os grãos foram armazenados em condições de temperatura e umidade relativa (UR) de 30°C e 84%, respectivamente, durante um período de seis meses. Uma amostra controle (soja recém-colhida) foi armazenada a - 18°C. Para alcançar a UR de 84%, foi depositada uma solução saturada de cloreto de potássio (KCl) na base de uma caixa de plástico fechada. Foram confeccionados saquinhos de filó de 25 cm x 15 cm, onde as amostras dos grãos de soja (aproximadamente 700 g) foram acondicionadas e colocadas em cima de um suporte de metal perfurado. O suporte com os saquinhos de soja foi colocado dentro da caixa com a solução saturada. As caixas foram acondicionadas em estufa (B.O.D Termal TE 391) com temperatura controlada de 30°C. A UR e temperatura foram monitoradas por um termo-

higrômetro. As amostras foram retiradas das caixas em intervalos de um mês e transferidas para freezer a - 18°C para as posteriores análises.

4.2.2 Produção de *Okara*

Os extratos de soja e *okara* foram produzidos segundo a metodologia de Ciabotti et al. (2007), com algumas modificações. Foram lavados 1000 g de grãos e hidratados com água destilada na proporção de 1:5 (m/v) durante 12 horas. Após a maceração, foi feita a drenagem e pesagem dos grãos macerados. Em seguida, os grãos foram triturados com água na proporção de 1:8 (m/v) em liquidificador Arno Alegro velocidade máxima, por 3 minutos. O extrato foi separado do resíduo (*okara*) através da filtração utilizando tecido voal duplo. O extrato de soja foi pasteurizado a 95°C por 5 minutos e seu volume foi medido. O *okara* úmido foi pesado e disposto em bandejas para secagem em estufa (De Leo) a 40°C por 24 horas. Após a secagem, o *okara* seco foi moído em moinho de facas (IKA A11 Basic) e o produto obtido foi denominado farinha integral de *okara*.

4.2.3 Absorção de Água pelos Grãos de Soja Durante a Maceração

A absorção de água foi calculada pela diferença entre a massa dos grãos macerados (12 horas) e a massa inicial. Expressa em g de água absorvida/1000 g de grão (BENASSI; BENASSI; PRUDENCIO, 2011).

4.2.4 Desengorduramento da Farinha Integral de *Okara*

A farinha integral de *okara* foi desengordurada seguindo Sze-Tao e Sathe (2004) modificado por Ogunwolu et al. (2009). Em um erlenmeyer, foram adicionados a farinha integral de *okara* e hexano P.A. na proporção de 1:10 (m/v) sob agitação em mesa agitadora orbital MA 140 CFT a 300 rpm por 2 horas (o processo foi repetido três vezes). A farinha foi filtrada a vácuo utilizando papel de filtro e em seguida foi feita a secagem em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) por 12 horas.

4.2.5 Composição Química

A composição química dos grãos de soja, farinha integral de *okara*, farinha desengordurada de *okara* e extrato de soja foi determinada segundo a AOAC (1995). Para o conteúdo de proteínas determinou-se nitrogênio por Kjeldahl e o fator de conversão utilizado foi de 6,25. Os carboidratos foram determinados por diferença. Os resultados em base seca, exceto umidade, foram expressos em g/100 g de amostra.

4.2.6 Rendimento das Farinhas Integral e Desengordurada de *Okara*

O rendimento das farinhas integral ou desengordurada de *okara* foi determinado como porcentagem da farinha em relação à massa inicial de grãos. Os resultados foram expressos em base seca.

4.2.7 Medidas de Cor das Farinhas Desengorduradas de *Okara*

A análise de cor das farinhas desengorduradas de *okara* foi realizada em um colorímetro (Konica Minolta CR 400). Foi empregado iluminante CIE D65, iluminação em ângulo de 45°, ângulo de observação de 0° e observação padrão CIE 10°. Após a medida, foram obtidos os valores de L^* (luminosidade), onde 0 = preto e 100 = branco, a^* (componente vermelho - verde), b^* (componente amarelo - azul) e a tonalidade cromática, h° , foi calculada pela equação $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$, onde 0° = vermelho puro, 90° = amarelo puro, 180° = verde puro e 270° = azul puro.

4.2.8 pH das Farinhas Desengorduradas de *Okara*

As farinhas desengorduradas de *okara* foram colocadas em um béquer com água destilada (pH 6,5 - 7,0), na proporção de 1:10 (m/v), e em seguida agitadas em agitador magnético (IKA, C - MAG HS7) por 2 minutos. O pH foi determinado em potenciômetro digital (HANNA, HI 3221) previamente calibrado com soluções tampão fosfato de pH 4,0 e 7,0 (KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

4.2.9 Propriedades Tecnofuncionais das Farinhas Desengorduradas de *Okara*

Foram estudadas as propriedades tecnofuncionais das farinhas desengorduradas de *okara* obtidas de soja controle (recém-colhida) e envelhecida por 1, 2, 3, 4, 5 e 6 meses.

4.2.9.1 Solubilidade das proteínas das farinhas desengorduradas de *okara* em diferentes pHs

Um grama de amostra foi suspenso em 50 mL de água destilada, ajustando-se o pH de 2 a 10 com HCl 1N ou NaOH 1N e a suspensão foi agitada por 30 minutos em mesa agitadora orbital MA 140 CFT (125 rpm à temperatura ambiente), centrifugada (Centrífuga 5804 R Eppendorf) a 5000 x g por 20 minutos e filtrada em papel filtro. As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl e o fator de conversão foi de 6,25 (KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014). A porcentagem de proteína solúvel em relação às proteínas totais na amostra foi calculada pela seguinte expressão:

$$\% \text{ de proteína solúvel} = \frac{\text{proteína solúvel no sobrenadante}}{\text{proteína total na amostra}} \times 100$$

4.2.9.2 Solubilidade das proteínas das farinhas desengorduradas de *okara* em água

Um grama de amostra foi suspenso em 50 mL de água destilada, cujo pH natural era de 6,5 - 7,0, e a suspensão agitada por 30 minutos em mesa agitadora orbital MA 140 CFT (125 rpm à temperatura ambiente), centrifugada (Centrífuga 5804 R Eppendorf) a 5000 x g por 20 minutos e filtrada em papel filtro. As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl e o fator de conversão foi de 6,25 (DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999). A porcentagem de proteína solúvel em relação às proteínas totais na amostra foi calculada pela seguinte expressão:

$$\% \text{ proteína solúvel} = \frac{\text{proteína solúvel no sobrenadante}}{\text{proteína total na amostra}} \times 100$$

4.2.9.3 Índice de absorção e retenção de água (IARA)

Foi preparada uma suspensão de 1 g da amostra em 30 mL de água destilada em tubos de centrífuga, previamente pesados. Os tubos foram agitados de forma intermitente durante 30 minutos mesa agitadora orbital (MA 140 CFT), velocidade de 75 rpm e centrifugados (Centrífuga 5804 R Eppendorf) a 1000 x g por 10 minutos. O sobrenadante de cada tubo foi descartado e o sedimento úmido pesado. O IARA foi obtido através da razão entre o peso do sedimento úmido e o peso da matéria seca, e expresso em gramas de água absorvida/grama de matéria seca (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

4.2.9.4 Índice de absorção e retenção de óleo (IARO)

Foi realizado o mesmo procedimento do IARA, substituindo a água por óleo de soja comercial (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

4.2.9.5 Volume de intumescimento (VI)

Foram adicionados 30 mL de água destilada a um grama de amostra em uma proveta de 100 mL. A suspensão foi agitada por 2 horas em mesa agitadora orbital (MA 140 CFT) a 300 rpm para completa hidratação da amostra e posteriormente, deixada em repouso para decantação. O volume ocupado pela amostra na proveta foi denominado de volume de intumescimento e expresso em mL/grama de matéria seca (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

4.2.9.6 Densidade Aparente

A densidade aparente das amostras foi determinada utilizando uma proveta graduada com 10 g de amostra. Foram dadas diversas batidas com as pontas dos dedos até que a amostra fosse acomodada em seu interior. Este volume foi lido e a densidade calculada pela razão de massa e volume e expressa em g/mL (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

4.2.9.7 Capacidade emulsificante (CE)

Foram homogeneizados a farinha desengordurada de *okara* e água destilada na proporção de 1:25 (m/v) por 30 segundos e em seguida, foi adicionado óleo de soja comercial a uma taxa de 10mL/min sob agitação. O ponto de inversão de fase foi registrado visualmente com a liquefação da emulsão. A capacidade emulsificante foi calculada como a quantidade de óleo emulsificado por grama de amostra (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

4.2.9.8 Atividade emulsificante (AE)

Um grama de amostra, 10 mL de água destilada e 10 mL de óleo de soja comercial foram emulsificados com o agitador de haste a 16000 rpm por 1 minuto. A suspensão foi centrifugada (Centrífuga 5804 R Eppendorf) a 1500 x g por 5 minutos, onde o volume da camada emulsificada e o volume total foram verificados. A atividade emulsificante foi calculada da seguinte forma (DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999; SEIBEL; BELÉIA, 2009):

$$AE = \frac{\text{Volume da camada emulsificada}}{\text{Volume total da amostra no tubo}} \times 100$$

4.2.9.9 Estabilidade emulsificante (EE)

Para verificação da estabilidade emulsificante, a emulsão foi preparada seguindo o procedimento para medida de atividade emulsificante. Em seguida, a amostra foi aquecida em banho-maria (Ma 127 Marconi) a 80°C por 30 minutos e resfriada em água por 15 minutos. A emulsão foi centrifugada (Centrífuga 5804 R Eppendorf) a 1500 x g por 5 minutos. A estabilidade foi expressa como (DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999):

$$EE = \frac{\text{Volume da camada emulsificada remanescente}}{\text{Volume total da camada emulsificada inicial}} \times 100$$

4.2.9.10 Capacidade espumante (CEsp)

Foi preparada uma suspensão com 25 mL de água destilada e 0,5 g de amostra. A suspensão foi agitada em Ultra-Turrax (IKA - Tube drive control) a 6000 rpm por 2 minutos. A capacidade de formação de espuma foi expressa como a porcentagem de aumento de volume baseando-se no volume inicial e final após a formação de espuma (COFFMANN; GARCIA, 1977).

4.2.9.11 Estabilidade da espuma (EEsp)

A estabilidade foi determinada após a análise da capacidade de formação de espuma, através da verificação da redução do volume após 30, 60, 90 e 120 minutos em repouso à temperatura ambiente. Os valores foram expressos em porcentagem de redução (COFFMANN; GARCIA, 1977).

4.3 APLICAÇÃO DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE OKARA EM SALSICHAS

As farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle e envelhecida por seis meses em condições de 84% UR e 30°C foram empregadas como substitutos parciais da proteína isolada de soja, comumente encontrada em salsichas convencionais na proporção de 4%, limite máximo permitido pela legislação brasileira (BRASIL, 2000).

4.3.1 Formulação das Salsichas

Foram elaboradas três formulações de salsicha (Tabela 1), uma controle (A), com proteína isolada de soja (PI) e sem farinha de *okara*, e nas outras 50% da quantidade de PI foi substituída por farinha desengordurada de *okara* de soja controle (B) ou de soja envelhecida por seis meses (C).

Tabela 1 - Formulações das salsichas.

Ingredientes	Formulações (g/100 g de produto)		
	A	B	C
CMS*	39,27	39,27	39,27
Paleta suína	35,00	35,00	35,00
Toucinho	15,00	15,00	15,00
PI**	4,00	2,00	2,00
FDO - Soja Controle***	0,00	2,00	0,00
FDO - Soja Envelhecida****	0,00	0,00	2,00
Fécula de mandioca	2,00	2,00	2,00
Sal	1,70	1,70	1,70
Condimento salsicha	1,00	1,00	1,00
Polifosfatos de sódio	0,50	0,50	0,50
Açúcar	0,50	0,50	0,50
Lactato	0,40	0,40	0,40
Antioxidante e fixador de cor	0,30	0,30	0,30
Sais de cura	0,25	0,25	0,25
Corante Carmim	0,05	0,05	0,05
Aroma de fumaça líquida	0,03	0,03	0,03

*Carne mecanicamente separada; **Proteína isolada de soja; ***Farinha desengordurada de *okara* de soja controle; **** Farinha desengordurada de *okara* de soja envelhecida.

A = salsicha controle (sem farinha desengordurada de *okara*); B = salsicha com 2% de farinha desengordurada de *okara* de soja controle e C = salsicha com 2% de farinha desengordurada de *okara* de soja envelhecida por seis meses de armazenamento em condições de 30°C e 84% UR.

4.3.2 Produção das Salsichas

As salsichas foram elaboradas no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina em Londrina, Paraná, Brasil. Foi realizada a trituração e homogeneização da carne congelada (paleta suína) e em seguida foram adicionados os ingredientes em um *cutter* (Sire) na seguinte ordem: polifosfatos de sódio, carne mecanicamente separada (CMS), sais de cura, sal, toucinho, condimento para salsicha, aroma de fumaça líquida, açúcar, proteína isolada de soja (formulação A) ou proteína isolada de soja acrescida de farinha desengordurada de *okara* obtido de soja controle (formulação B) ou proteína isolada de soja acrescida de farinha desengordurada de *okara* obtido de soja envelhecida (formulação C). Em seguida, foram acrescentados o antioxidante e fixador de cor, corante carmim, lactato e fécula de mandioca até a completa homogeneização da massa. Logo, esta foi embutida, cozida (temperatura interna da salsicha 72°C) e resfriada em banho de gelo (temperatura interna da salsicha 10°C). As tripas foram retiradas e as salsichas foram levadas ao banho de corante urucum (1,5%) por 5 minutos e a cor foi fixada com solução de ácido

fosfórico (0,1%) por 5 minutos. Logo após, as salsichas foram resfriadas e embaladas a vácuo (Embaladora Sulpak Supervac).

4.3.3 Rendimento das Salsichas

A massa de salsicha cozida foi relacionada à massa da salsicha crua e os resultados dados em porcentagem (%).

4.3.4 Medidas de Cor das Salsichas

As salsichas foram cortadas longitudinalmente para a medida da cor interna. Para isto, foi utilizado um colorímetro (Konica Minolta CR 400) e empregados iluminante CIE D65, iluminação em ângulo de 45°, ângulo de observação de 0° e observação padrão CIE 10°. Este forneceu os parâmetros de L* (luminosidade), onde 0 = preto e 100 = branco, a* (componente vermelho - verde) e b* (componente amarelo - azul).

4.3.5 Composição Química das Salsichas

A composição química foi realizada segundo a AOAC (1995). Os carboidratos foram determinados por diferença. Os resultados foram expressos em g/100 g de amostra.

4.3.6 Análises Microbiológicas das Salsichas

As salsichas foram submetidas às análises microbiológicas preconizadas pela Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, seguindo os padrões microbiológicos para alimentos, classificadas na categoria 5 (Carnes e produtos cárneos) no item i: produtos cárneos cozidos ou não, embutidos ou não (mortadela, salsicha, presunto, fiambre, morcela e outros), onde os parâmetros e seus respectivos limites são aplicados para os seguintes micro-organismos: Coliformes a 45°C, Estafilococos coagulase positiva, Clostrídio sulfito redutor a 46°C e pesquisa de *Salmonella* sp. As metodologias utilizadas foram as descritas na

Instrução Normativa nº 62 de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2001; BRASIL, 2003).

4.3.7 Análise Sensorial das Salsichas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL), parecer número 020/2014 (Anexo A). O questionário de recrutamento dos julgadores e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido estão nos anexos B e C, respectivamente.

4.3.7.1 Condições do teste e preparo das amostras

O teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina em Londrina, Paraná, Brasil. Os julgadores realizaram o teste em cabines individuais com luz branca, à temperatura ambiente.

Para a avaliação sensorial, as salsichas foram cozidas a 100°C por 2 minutos e fatiadas em pedaços de 1,5 cm. As amostras ($\approx 60^\circ\text{C}$) foram servidas em potes descartáveis transparentes codificados com números de três dígitos aleatórios.

4.3.7.2 Teste de aceitação de atributos

As salsichas foram avaliadas, em ordem aleatória, em uma sessão com as três amostras (Formulações A, B e C). As amostras codificadas foram apresentadas monadicamente aos julgadores que avaliaram os atributos, aparência, aroma, sabor, textura e avaliação global, utilizando a escala hedônica de 9 pontos (9 = gostei muitíssimo; 1 = desgostei muitíssimo) (Ficha de avaliação - Anexo D). A equipe de julgadores foi formada por 100 indivíduos não treinados (55% do sexo feminino e 45% do sexo masculino) e o grau de instrução variou do 2° completo a pós-graduação, sendo que o nível universitário prevaleceu entre os julgadores, 64%. Todos os participantes eram consumidores de salsichas, porém com diferente frequência (1% consome diariamente, 1% de 3 a 4 vezes por semana, 22% de 1 a 2 vezes por semana e 76% raramente, ou seja, uma vez por mês ou menos). As

salsichas de carne suína, frango e tipo *hot dog* eram os tipos mais consumidos por esta equipe. Além disso, 83% dos julgadores eram consumidores de produtos à base de soja, principalmente das bebidas e de *shoyu*. Aproximadamente 77% dos julgadores já haviam participado de testes sensoriais.

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos com grãos, farinha integral de *okara*, farinha desengordurada de *okara* e extrato de soja seguiram o delineamento inteiramente casualizado, com duas repetições e as avaliações, em cada repetição, foram feitas em triplicata.

As análises física e química das salsichas foram realizadas em triplicata e conduzidas ao delineamento inteiramente casualizado.

Para o teste sensorial das salsichas seguiu-se o delineamento de blocos completos casualizados, sendo os tratamentos as formulações de salsichas e blocos os julgadores.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey no nível de 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o *Statistica 7.0* (StatSoft, Tulsa, USA).

REFERÊNCIAS

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 16. ed. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists International, 1995.

AGUADO, A. **Development of okara powder as a gluten free alternative to all purpose flour for value added use in baked goods**. 2010. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - University of Maryland, Marilândia, 2010.

AHA. American Heart Association. **Soy protein, isoflavones and cardiovascular health**. 2014. Disponível em: <<http://circ.ahajournals.org/content/113/7/1034>>. Acesso em: 13 jul. 2014.

ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D. Storage of soybeans and its effects on quality of soybean sub-products. In: KREZHOVA, D. **Recent trends for enhancing the diversity and quality of soybean products**. Croacia: InTechOpen, 2011. p. 47 - 66.

ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D.; PETERNELLI, L. A.; SILVA, M. T. C.; COSTA, A. R. Influence of soybean storage conditions on crude oil quality. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 303 - 308, 2010.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos**. 5. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011.

Associação brasileira de pós-colheita (ABRAPOS). **COCAMAR: Dificuldade de armazenagem**. 2014. Disponível em: <<http://www.abrapos.org.br/noticia/199/+COCAMAR+Dificuldade+de+armazenagem+e+um+dos+temas+da+Conferencia+da+ABRAPOS.html>>. Acesso em: 13 jul. 2014.

BENASSI, V. T.; BENASSI, M. T.; PRUDENCIO, S. H. Cultivares brasileiras de soja: características para a produção de tofu e aceitação pelo mercado consumidor. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, p. 1901 - 1914, 2011.

BENASSI, V. T.; PRUDENCIO, S. H. Impactos do processamento de soja na retenção de minerais, isoflavonas e proteínas em tofus. **Alimentos e Nutrição**, v. 24, p. 51 - 59, 2013.

BOM, N. C. V. **Envelhecimento da soja: Efeitos nas propriedades químicas e funcionais das proteínas**. 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

BOMDESPACHO, L. Q.; CAVALLINI, D. C. U.; CASTRO, A. D.; ROSSI, E. A. O emprego de okara no processamento de "hambúrguer" de frango fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 2, p. 315 - 322, 2011.

BOWLES, S.; DEMIATE, I. M. Caracterização físico-química de okara e aplicação em pães do tipo francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 652 - 659, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 13 jul. 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Brasil projeções do agronegócio 2011/2012 a 2021/2022**. 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/Projecoes%20do%20Agronegocio%20Brasil%202011-20012%20a%202021-2022%20%282%29%281%29.pdf>. Acesso em: 26 set. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Culturas: Soja**. 2014. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>>. Acesso em: 1 ago. 2014.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 05 abr. 2000. Seção 1, p. 6 - 10.

CANTUÁRIA, C. M.; RIBEIRO, S. C. A.; RIBEIRO, C. F. A.; PARK, K. J.; ARAÚJO, E. A. F. Perfil sensorial de pães de forma enriquecidos com *okara*. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 10, n. 2, p. 111 - 120, 2008.

CAVALHEIRO, S. F. L.; TININIS, C. R. C. S.; TAVANO, O. L.; CUSTÓDIO, M. F.; ROSSI, E. A.; CARDELLO, H. M. A. B. Biscoito sabor chocolate com resíduo de soja, "okara": teste afetivo com crianças em idade pré-escolar. **Alimentos e Nutrição**, v. 12, p. 151 - 162, 2001.

CAVARIANI, C.; TOLEDO, M. Z.; RODELLA, R. A.; FRANÇA NETO, J. B.; NAKAGAWA, J. Velocidade de hidratação em função de características do tegumento de sementes de soja de diferentes cultivares e localidades. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p. 30 - 39, 2009.

CERVANTES, B. G.; AOKI, N. A.; ALMEIDA, C. P. M. Aceitação sensorial de biscoitos de polvilho elaborado com farinha de okara e análise de dados com metodologia de penalty analysis. **Brazilian of Journal of Food Technology**, p. 3 - 10, 2011.

CHAN, W. M.; MA, C. Acid modification of proteins from soymilk residue (okara). **Food Research International**, v. 32, p. 119 - 127, 1999.

CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. F.; PINHEIRO, A. C. M.; CLEMENTE, P. R.; LIMA, M. A. C. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 643 - 548, 2007.

COFFMANN, C. N.; GARCIA, V. V. Functional properties and amino acid content of a protein isolated from mung bean flour. **Journal of Food Technology**, v. 12, p. 473, 1977.

CUNHA, M. A. A.; ANDRADE, A. C. W.; FERMIANI, E. A.; APPELT, P.; BURATTO, A. P. Barras alimentícias formuladas com resíduo de soja. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 1, n. 2, p. 89 - 96, 2010.

CUNHA, M. A. A.; PERIN, C.; SANGALLI, R.; DIAS, C. A.; BEUX, S. Produção de biscoitos com subproduto de soja (*okara*). **Synergismus Scientifica UTFPR**, v. 2, p. 1 - 4, 2007.

DAGUER, H.; SILVA, H. D.; HIGASHIYAMA, E. T.; ZANETTE, C. M.; BERSOT, L. S. Qualidade de produtos cárneos fabricados sob inspeção federal no estado do Paraná. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 2, p. 359 - 364, 2011.

DAMODARAN, S. Aminoácidos, peptídeos e proteínas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 169 - 262.

DERGAL, S. B. **Química de los alimentos**. 4. ed. Naucalpan de Juárez: Pearson Educación, 2006.

DONADEL, M. E.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, 1999.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATIIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterization, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v. 124, p. 411 - 421, 2011.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **História da soja**. 2014a. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/porta1/soja/cultivos/soja1/historia>>. Acesso em: 13 jul. 2014.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Soja na alimentação**. 2014b. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/>. Acesso em: 10 jul. 2014.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **A soja no Brasil**. 2014c. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>>. Acesso em: 26 set. 2014.

Food and Agricultural Organization of United Nations. The role of producer organizations in reducing food loss and waste. **International year of cooperatives**, 2012.

FUNG, W.; YUEN, K.; LIONG, M. Characterization of fibrous residues from agrowastes and the production of nanofibers. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, p. 8077 - 8084, 2010.

GARCIA, C. E. R.; BOLOGNESI, V. J.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, O. G.; COSTA, C. K. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1510 - 1517, 2012.

GARCIA-VELA, L. A.; STANLEY, D. W. Protein denaturation and starch gelatinization in hard-to-cook beans. **Journal of Food Science**, v. 54, p. 1284 - 1286, 1989.

GENTA, H. D.; GENTA, M. L.; ÁLVAREZ, N. V.; SANTANA, M. S. Production and acceptance of a soy candy. **Journal of Food Engineering**, v. 53, p. 199 - 202, 2002.

GLÓRIA, M. M.; REGITANO-d'ARCE, M. A. B. Concentrado e isolado protéico de torta de castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 240 - 245, 2000.

GOLBITZ, P.; JORDAN, J. Soyfoods: Market and Products. In: RIAZ, M. N. **Soy Applications in Food**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2006. p. 1 - 22.

GRIZOTTO, R. K.; ANDRADE, J. C.; MIYAGUSKU, L.; YAMADA, E. A. Physical, chemical, technological and sensory characteristics of Frankfurter type sausage containing okara flour. **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 3, p. 538 - 546, 2012.

GRIZOTTO, R. K.; RUFÍ, R. G. C.; YAMADA, E. A.; VICENTE, E. Evaluation of the quality of a molded sweet biscuit enriched with okara flour. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 270 - 275, 2010.

GUERREIRO, L. **Dossiê Técnico: produção de salsicha**. Rio de Janeiro: REDETEC, 2006.

HEYL-RUSHMER, M. Soy-based food and drink: although the taste of soy-based products has improved, helping consumers understand this remains a challenge. High consumer awareness of soy's health benefits means more overt publicizing of soy as an ingredient may be key to boosting sales. **Prepared foods**, v. 178, n. 4, p. 13, 2009.

HINCKS, M. J.; STANLEY, D. W. Lignification: evidence for a role in hard-to-cool beans. **Journal of Food Biochemistry**, v. 11, p. 41 - 58, 1987.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 12, p. 4798 - 4805, 1998.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3792 - 3800, 2004a.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Structural characteristics of purified β -Conglycinin from soybeans stored under four conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7931 - 7937, 2004b.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Storage conditions affect soybean color, chemical, composition and tofu qualities. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 28, p. 473 - 488, 2004c.

HUANG, W.; CAO, L.; MA, Y.; WANG, J.; JIANG, Y. Preparation of nutritional sausage with soybean fiber. **Meat Industry**, v. 9, p. 11 - 13, 2004.

KAMIZAKE, N. K. K. **Efeito do envelhecimento de soja (*Glycine max*) sobre as propriedades físicas e químicas dos grãos, extratos e tofus e características sensoriais dos tofus**. 2012. 178 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

KAMIZAKE, N. K. K.; VARÉA, G. S.; PRUDENCIO, S. H. Physicochemical properties of aged soybean components. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 12, n. 2, p. 263 - 268, 2014.

KAMIZAKE, N. K. K.; YAMASHITA, F.; PRUDENCIO, S. H. Physical alterations of soybean during accelerated and natural aging. **Food Research International**, v. 55, p. 55 - 61, 2014.

KINSELLA, J. E. Functional properties of proteins in foods: a survey. **CRC Critical Review's in Food Science and Nutrition**, v. 7, p. 219 - 280, 1976.

KONG, F.; CHANG, S. K. C.; LIU, Z.; WILSON, L. A. Change of soybean quality during storage as related to soymilk and tofu making. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 3, p. 134 - 144, 2008.

KONG, F.; CHANG, S. K. C. Changes in protein characteristics during soybean storage under adverse conditions as related to tofu making. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 387 - 393, 2013.

KUO, H.; CHEN, S.; YEH, A. Preparation and physicochemical properties of whole-beans soymilk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 742 - 749, 2014.

- LAROSA, G.; ROSSI, E. A.; BARBOSA, J. C.; CARVALHO, M. R. B. Aspectos sensoriais, nutricionais e tecnológicos de biscoito doce contendo farinha de "okara". **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 151 - 157, 2006.
- LEE, K. H.; RYU, H. S.; RHEE, K. C. Protein solubility characteristics of commercial soy protein products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, p. 85 - 90, 2003.
- LI, B.; QIAO, M.; LU, F. Composition, nutrition, and utilization of okara (Soybean Residue). **Food Reviews International**, v. 28, p. 231 - 252, 2012.
- LI, B.; ZHANG, Y.; YANG, H.; LI, R. Effect of drying methods on functional properties of bean curd dregs. **Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Sciences Edition)**, v. 36, n. 3, p. 64 - 66, 2008.
- LIU, K. Cellular, biological, and physicochemical basis for the hard-to-cook defect in legumes seeds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 4, p. 263 - 298, 1995.
- LIU, K. Food use of whole soybeans. In: JOHNSON, L.; WHITE, P. J.; GALLOWAY, R. **Soybeans: Chemistry, Production, Processing and Utilization**. Urbana: AOCS, 2008. p. 441 - 482.
- LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: Chapman and Hall, 1997.
- LIU, K. **Soybeans as functional foods and ingredients**. Champaign, Illinois: AOCS Press, 2004.
- LIU, Z. S.; CHANG, S. K. C. Characteristics of soymilk and tofu of five varieties of soybeans as affected by on-site storage. **Journal of Food Processing Preservation**, v. 36, n. 6, p. 525 - 530, 2012.
- LIU, C.; WANG, X.; MA, H.; ZHANG, Z.; GAO, W.; XIAO, L. Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. **Food Chemistry**, v. 111, p. 29 - 37, 2008.
- LU, H.; LI, M. Preparation of fine dried noodle using okara. **China Western Cereals Oils Technology**, v. 23, n. 5, p. 48 - 48, 1998.
- MA, C. Y.; LIU, W. S.; KWOK, K. C.; KWOK, F. Isolation and characterization of proteins from soymilk residue (okara). **Food Research International**, v. 29, n. 8, p. 799 - 805, 1997.
- MANNIE, E. Organic okara and oat fiber. **Prepared Foods**, v. 175, n. 6, p. 127, 2006.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYKRYZANOWSKI, F.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1 - 24.

MATEOS-APARICIO, I.; MATEOS-PEINADO, C.; RUPÉREZ, P. High hydrostatic pressure improves the functionality of dietary fibre in okara by-product from soybean. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 445 - 450, 2010.

MATEOS-APARICIO, I.; REDONDO-CUENCA A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M.J.; ZAPATA-REVILLA M.; TENORIO-SANZ, M. Pea pod, broad bean pod and okara, potential sources of functional compounds. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 9, p. 1467 - 1470, 2010.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; CRUZ, H. L.; MENEGHELLO, G. E.; FERRARI, C. S.; ZIMMER, P. D. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p. 23 - 29, 2009.

MONTEIRO, R. P.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, M. G. A.; PIRES, C. V.; MOREIRA, M. A. Qualidade proteica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina kunitz e das isoenzimas lipoxigenases. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 195 - 205, 2004.

MOURE, A.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Functionality of oilseed protein products: A review. **Food Research International**, v. 39, p. 954 - 963, 2006.

NARAYAN, R.; CHAUHAN, G. S.; VERMA, N. S. Changes in the quality of soybean during storage. Part 1-Effect of storage on some physico-chemical properties of Soybean. **Food Chemistry**, v. 27, p.13 - 23, 1988a.

NARAYAN, R.; CHAUHAN, G. S.; VERMA, N. S. Changes in the quality of soybean during storage. Part 2-Effect of soybean storage on the sensory qualities of the products made therefrom. **Food Chemistry**, v. 20, p. 181 - 190, 1988b.

NOZZOLILO, C.; BEZEDA, J. M. Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability and the possible role of soluble tannins in both phenomenon. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 64, p. 815 - 824, 1984.

OGUNWOLU, S. O.; HENSHAW, F. O.; MOCK, H.; SANTROS, A.; AWONORIN, S. O. Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. **Food Chemistry**, v. 115, p. 852 - 858, 2009.

OLIVO, R. Tecnologia de extensão cárnea. In: SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B. D. G. M. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo: Varela, 2006. p. 175 - 184.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No caminho da pesquisa**. 2. ed. São Paulo: varela, 2002.

O'TOOLE, D. K. Characteristics and use of okara, the soybean residue from soy milk production- A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 363 - 371, 1999.

PARDI, M. C.; SANTOS, L. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: UFG, 1995.

PELEGRINE, D. H. G.; GASPARETTO, C. A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. **LWT-Food Science and Technolony**, v. 38, p. 77 - 80, 2005.

PINTO, D. D. J.; CASTRO, P. S. Estudo preliminar de secagem do *okara* (resíduo do extrato aquoso de soja) para inativação dos fatores antinutricionais e conservação. **Brazilian Journal of Food Techonology**. VII BMCFB, dez. 2008.

PREPARED FOODS. **Hains pick a wave**. 2007. Disponível em: <<http://www.preparedfoods.com/articles/hain-picks-a-wave>>. Acesso em: 29 ago. 2014.

REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA SUÁREZ, M. J.; MATEOS-APARICIO, I. Soybean seeds and its by-product *okara* as sources of dietary fibre. Measure by AOAC and Englyst methods. **Food Chemistry**, v. 108, p. 1099 - 1105, 2008.

REGITANO D'ARCE, M. A. B. **Pós-colheita e armazenamento de grãos**. 2014. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Armazenamentodegraos.pdf>>. Acesso em: 13 jul. 2014.

REYS-MORENO,C.; PAREDES-LÓPEZ, O. Hard-to-cook phenomenon in common beans: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 3, p. 227 - 286, 1993.

RIBEIRO, R.; MIGUEL, D. P. Avaliação da composição físico-química de farinhas de *okara* e girasol e sua utilização no desenvolvimento de pão de forma. In: IX JORNADA CIENTÍFICA DA FAZU, 2010, Uberaba, MG. **Anais...** Uberaba, 2010.

SAIO, K.; KOBAYAKAWA, K.; KITO, M. Protein denaturation during model storage studies of soybeans and meals. **Cereal Chemistry**, v. 59, n. 5, p. 408 - 412, 1982.

SAIO, K.; NIKKUNI, I.; ANDO, Y.; OTSURU, M.; TERAUCHI, Y.; KITO, M. Soybean quality changes during model storage studies. **Cereal Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 77 - 82, 1980.

SANTOS, G. C. BEDANI, R.; ROSSI, E. A. Utilização de resíduo de soja (*okara*) no desenvolvimento de um cereal matinal. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, p. 31 - 34, 2004.

SANTOS, C. G. P.; MIGUEL, D. P.; LOBATO, F. M. Processamento de "hambúrgueres" à base de resíduo de soja "*Okara*": Análise físico-química, sensorial e microbiológica. In: IX JORNADA CIENTÍFICA DA FAZU, 2010, Uberaba, MG. **Anais...** Uberaba, 2010.

SEIBEL, N. F.; ALVES, F. P.; OLIVEIRA, M. A.; LEITE, R. S. Brazilian soybean varieties for human use. In: EL-SHEMY, H. **Soybean-Bio-Active Compounds**. Croacia: InTechOpen, 2013. p. 475 - 493.

SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. Características químicas e funcionalidade tecnológica de ingredientes de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]: carboidratos e proteínas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 113 - 122, 2009.

SEIBEL, N. F.; YOSHIDA, B. Y.; PEREIRA, D. G.; CASTILHO, S. P. G. Utilização de okara na formulação de biscoito tipo *cookie*. In: VI Congresso Brasileiro de Soja, 2012, Cuiabá, MT. **Anais...** Cuiabá, 2012.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996.

SHARMA, G. M.; SU, M.; JOSHI, A. U.; ROUX, K. H.; SATHE, S. K. Functional properties of select edible oilseed proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 5457 - 5464, 2010.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B. D. G. M. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo: Varela, 2006.

SILVA, C. E.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G.; LEITE, R. S.; MÔNACO, A. A. Teores de isoflavonas em grãos inteiros e nos componentes dos grãos de diferentes cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 150 - 156, 2012.

SILVA, J. B.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; PRUDÊNCIO, S. H. Chemical and physical composition of grain-type and food-type soybean for food processing. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 7, p. 777 - 784, 2009.

SILVA, J. B.; FELBERG, I.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; LEE, S. Y.; PRUDENCIO, S. H. Relationship among sensory analysis, isoflavone and hexanal contents of soymilk powder. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 5, p. 1197 - 1204, 2010.

SILVA, M. A. D.; VIEIRA, R. D.; SANTOS, J. A. Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja, CV. MONSOY 8400¹. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 91 - 99, 2008.

STANOJEVIC, S. P.; BARAC, M. B.; PESIC, M. B.; VUCELIC-RADOVIC, B. V. Composition of proteins in okara as a byproduct in hydrothermal processing of soy milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 9221 - 9228, 2012.

STECHELL, K.D.R.; CASSIDY, A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 3, p. 758 - 767, 1999.

SU, S. I. T.; YOSHIDA, C. M. P.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J.; QUIÑONES, E. M.; VENTURINI, A. C. Okara, a soymilk industry by-product, as a non-meat protein

source in reduced fat beef burgers. **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, v. 33, p. 52 - 56, 2013.

SUDA, T.; YASUHIRO, K.; TSUTSUI, S.; TSUTSUI, D.; FUJITA, M.; NAKAYA, Y. Nutritional evaluation of the new okara powder for food processing material. **Foods and Foods Ingredients Journal of Japan**, v. 212, n. 4, p. 8, 2007.

SUPPAVORASATIT, I.; LEE, S.; CADWALLADER, K. R. Effect of enzymatic protein deamidation on protein solubility and flavor binding properties of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 78, 2013.

SZE-TAO, K. W. C.; SATHE, S. K. Functional properties and in-vitro digestibility of almond (*Prunus dulcis L.*) protein isolate. **Food Chemistry**, v. 69, p. 153 - 160, 2004.

THOMAS, R.; deMAN, J. M.; deMAN, L. Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 66, n. 6, p. 777 - 782, 1989.

TRAYNHAM, T. L.; MYERS, D. J.; CARRIQUIRY, A. L.; JOHSON, L. A. Evaluation of water-holding capacity for wheat-soy flour blends. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 84, p. 151 - 155, 2007.

United States Department of Agriculture. **Production, Supply and Distribution**. 2014. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>>. Acesso em: 13 jul. 2014.

U. S Food and Drug Administration. **Food labeling. Health claims: soy protein and risk of coronary heart disease (CHD)**. 1999. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=101.82>>. Acesso em: 13 jul. 2014

VAN DER RIET, W. B.; WIGHT, A. W.; CILLIERS, J. J. L.; DATEL, J. M. Food chemical investigation of tofu and its byproduct okara. **Food Chemistry**, v. 34, p. 193 - 202, 1989.

VISHWANATHAN, K. H.; GOVINDARAJU, K.; SINGH, V.; SUBRAMANIAN, R. Production of okara and soy protein concentrates using membrane technology. **Food Engineering and Physical Properties**, v. 76, p. 158 - 164, 2011.

WALISZEWSKI, K. N.; PARDIO, V.; CARREON, E. Physicochemical and sensory properties of corn tortillas made from nixtamalized corn flour fortified with spent soymilk residue (okara). **Journal of Food Science**, v. 67, n. 8, p. 3194 - 3197, 2002.

WANG, Y.; WANG, J. Preparation of okara vegetable slice. **Guangzhou Food Scienc and Technology**, v. 19, n. 4, p. 64 - 66, 2003.

WICKRAMARATHNA, G. L.; ARAMPATH, P. C. Utilization of okara in bread making. **Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)**, v. 31, p. 29 - 33, 2003.

WU, S. Preparation of Bean Dregs Cake. **Food Industry**, v. 24, n. 6, p. 23 - 24, 2003.

WU, J.; SHANG, Y.; LI, X.; HE, P. Study on the crisp bean dregs biscuit. **Sichuan Food and Fermentation**, v. 42, n. 6, p. 32 - 35, 2006.

YAMAGUCHI, M.; YOSHIDA, B. Y.; RIBEIRO, S.; FALCAO, H.; TANAKA, C.; SEIBEL, N. F. Avaliação física e sensorial de hambúrguer bovino contendo *okara* na formulação. In: XI Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2011, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba: Editora Tecart, 2011. v. 1, p. 1 - 7.

YOSHIDA, B. Y.; SEIBEL, N. F. Propriedades tecnológicas de grãos de soja, *okara* e hambúrgueres de carne bovina contendo *okara* na formulação. In: XVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR, 2011, Ponta Grossa, PR. **Anais...** Ponta Grossa, 2011. v. 1.

YOUSIF, A. M. Increased stored soybean dietary fiber concentration is positively correlated to testa darkening measured chromaticity. **Journal of Cereal Science**, v. 60, p. 25 - 30, 2014a.

YOUSIF, A. M. Soybean grain storage adversely affects grain testa color, texture, and cooking quality. **Journal of Food Quality**, v. 37, p. 18 - 28, 2014b.

YOUSIF, A. M.; KATO, J.; DEETH, H. C. Effect of storage on the biochemical structure and processing quality of Adzuki Bean (*Vigna angularis*). **Food reviews International**, v. 23, p. 1 - 33, 2007.

ZHAO, G.; KONG, J. Enzymolysis bean dregs biscuit development. **Food Research Development**, v. 10, p. 67 - 69, 2009.

ZAYAS, J. F. **Functionality of proteins in foods**. Heidelberg: Springer, 1997.

ZADERNOWSKI, R.; NOWAK-POLAKOWSKA, H. RASHED, A. A. The influence of heat treatment on the activity of lipo-and-hydrophilic components of oat grain. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 23, p.177 - 191, 1999.

ZHANG, B. Preparation of sugarless and bean dregs cake. **Nongchanpin Jiagong Xuekan**, v. 6, p. 94 - 95, 2007.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos foram redigidos na forma de dois artigos científicos conforme segue.

6.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1

RENDIMENTO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE OKARA DE SOJA ENVELHECIDA

Bruna Yumi Yoshida e Sandra Helena Prudencio

RESUMO

Objetivou-se investigar o efeito do envelhecimento acelerado de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill] sobre o rendimento e as propriedades físico-químicas de *okara*, coproduto do extrato de soja e *tofu*. Os grãos foram armazenados a 30°C e 84% UR durante seis meses. Uma amostra controle foi armazenada a - 18°C. Após o armazenamento, o grão apresentou mudanças em sua composição química, representadas pelo decréscimo no teor de proteínas e lipídios e aumento no teor de umidade. Com o envelhecimento, o conteúdo de água absorvida pelos grãos, durante a maceração, diminuiu, a massa de *okara* úmido aumentou, porém não houve diferença significativa do volume de extrato de soja. O rendimento da farinha integral de *okara* aumentou com o envelhecimento. As farinhas desengorduradas de *okara* se tornaram mais escuras e vermelhas e sua composição química variou, principalmente o conteúdo de proteínas que aumentou de 23,47 (controle) para 37,77 g/100 g (seis meses de armazenamento). Houve redução do pH e da solubilidade proteica em diferentes pHs das farinhas desengorduradas de *okara*.

Palavras-chave: Extrato de soja. Armazenamento. Cor. Proteínas. pH. Solubilidade.

INTRODUÇÃO

Okara é o coproduto gerado a partir da produção de extrato de soja e *tofu*. Estima-se que a cada quilo de soja utilizado para produção de extrato de soja são gerados 1,1 kg de *okara* fresco (O'TOOLE, 1999). Embora se trate de um material de baixo valor comercial, o *okara* possui constituintes com potencial nutricional e tecnofuncional. Em base seca, apresenta 42 a 58% de fibras, 15 a 33% de proteínas, 8 a 11% de lipídeos, 3 a 5% de carboidratos e 3 a 4,5% de cinzas (LI; QIAO; LU, 2012).

Tendo em vista que este resíduo mantém parte dos compostos da soja, como o elevado teor de proteínas, o *okara* tem se tornado uma opção de fonte de proteínas de baixo custo para nutrição humana, uma vez que é destinado, principalmente, à ração de animais. Estudos do coproduto têm sido direcionados a aplicações mais nobres, como ingrediente em pães (BOWLES; DEMIATE, 2006), biscoitos (LAROSA et al., 2006; CUNHA et al., 2007; MADRONA; ALMEIDA, 2008; GRIZOTTO et al., 2010), barras alimentícias (CUNHA et al., 2010) e produtos cárneos como salsichas (GRIZOTTO et al., 2012).

Tem sido reportado que o armazenamento da soja por tempo prolongado em condições ambientais pode afetar negativamente a qualidade dos grãos e de seus produtos. A temperatura e umidade relativa (UR) do ambiente de armazenamento, conteúdo de umidade e integridade dos grãos e a presença de materiais estranhos são fatores que devem ser controlados durante a estocagem para preservação da qualidade (SAIO; KOBAYAKAWA; KITO, 1982; HOU; CHANG, 2004a, 2004b, 2004c; KONG et al., 2008; ALENCAR et al., 2010; KAMIZAKE; YAMASHITA; PRUDENCIO, 2014). Kong et al. (2008) indicaram que as condições seguras de armazenamento de grãos são temperatura inferior a 22°C e UR entre 55 a 60%, que corresponde a umidade inicial nos grãos de 8 a 10%. Em regiões tropicais como o Brasil e Sul e Sudeste asiático, onde a condição média anual de temperatura é de 27°C e a UR é de 80%, a manutenção da qualidade dos grãos durante o armazenamento pode ser prejudicada (HOU; CHANG, 2004c; KONG et al., 2008; KAMIZAKE; YAMASHITA; PRUDENCIO, 2014). Esta perda de qualidade devido às alterações fisiológicas e bioquímicas nos grãos é denominada envelhecimento (LIU, 1997).

Grãos envelhecidos apresentam cor mais escura, alterações na estrutura anatômica do tegumento ou casca, alterações na capacidade de hidratação, maior dureza dos grãos crus e cozidos, maior acidez do tecido, proteínas menos solúveis, além de outras alterações, quando comparados com grãos recém-colhidos (SAIO et al., 1980; HOU; CHANG, 2004c; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008; ALENCAR et al., 2010; KAMIZAKE; YAMASHITA; PRUDENCIO, 2014).

Também tem sido observado que o uso de soja envelhecida para produção de extrato de soja e *tofu*, gera produtos com menor rendimento e menor conteúdo de proteínas, como consequência da redução da solubilidade, além de alterações de cor, em decorrência das reações de escurecimento enzimático e não

enzimático (reação de *Maillard*), ocasionadas durante o armazenamento de grãos (NOZZOLILLO; BEZADA, 1984; HOU; CHANG, 2004c; LIU; CHANG, 2012).

Extratos de soja mais ácidos é outra consequência característica da utilização de grãos envelhecidos para sua produção. Durante o armazenamento, ocorrem reações hidrolíticas de triacilgliceróis e oxidação de ácidos graxos insaturados. Os produtos gerados destas reações, são responsáveis pelo aumento da acidez ou diminuição do pH no grão e conseqüentemente de seus produtos (THOMAS; deMAN; deMAN, 1989; ZADERNOWSKI; NOWAK-POLAKOWSKA; RASHED, 1999; GOLBITZ; JORDAN, 2006; KONG et al., 2008; ARAÚJO, 2011).

A redução da solubilidade proteica em grãos envelhecidos tem sido relacionada ao aumento de acidez no tecido que causa sua desnaturação e/ou agregação (HOU; CHANG, 1998; HOU; CHANG, 2004a, 2004b; KONG; CHANG, 2013; KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014), reduzindo sua extração durante o preparo de extrato ou *tofu* (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988b; THOMAS; deMAN; deMAN, 1989; HOU; CHANG, 1998; KONG et al., 2008; KONG; CHANG, 2013) e aumentando seu conteúdo na fração residual, ou seja, no *okara* (THOMAS; deMAN; deMAN, 1989).

Não há relatos sobre o efeito do envelhecimento da soja sobre o *okara*. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do envelhecimento da soja BRS 257, isenta de lipoxigenases L1, L2 e L3, sobre o rendimento e características físicas e químicas do *okara*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos Laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Estudou-se a soja BRS 257 da safra de 2012/13, cultivada na região de Mauá da Serra - PR, Brasil, fornecida pela SL Alimentos.

ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS DE SOJA

A soja controle (recém-colhida) foi armazenada em freezer a - 18°C. Para o envelhecimento acelerado a soja foi armazenada em estufa (B.O.D Termal TE 391) em temperatura de 30°C e umidade relativa (UR) de 84%, durante seis

meses, com base nos estudos de Hou e Chang (2004c), Kamizake, Yamashita e Prudencio (2014) e Kamizake, Varéa e Prudencio (2014). Amostras (700 g) foram acondicionadas em saquinhos de tecido filó (25 x 15 cm) e colocadas sobre um suporte de metal perfurado que estava adaptado em caixa de plástico, que no fundo continha uma solução saturada de KCl (para umidade relativa chegar a 84%), então a caixa foi fechada e levada a estufa (B.O.D Termal TE 391). A umidade realtiva e temperatura foram monitoradas por um termo-higrômetro. As amostras foram retiradas da estufa em intervalos de um mês e transferidas para freezer a - 18°C para as posteriores análises.

PRODUÇÃO DE EXTRATO E OKARA

O extrato e *okara* foram produzido segundo Ciabotti et al. (2007), com algumas modificações. Foram lavados 1000 g de grãos e hidratados com água destilada na proporção de 1:5 (m/v) durante 12 horas. Após a maceração, fez-se a drenagem e pesagem dos grãos. Em seguida, os grãos foram triturados com água destilada na proporção de 1:8 (m/v) em liquidificador Arno Alegro na velocidade máxima, por 3 minutos. O extrato foi separado do resíduo (*okara*) por meio de filtração utilizando tecido voal duplo. O extrato de soja foi pasteurizado a 95°C por 5 minutos e seu volume medido. O *okara* úmido foi pesado e disposto em bandejas para secagem em estufa a 40°C por 24 horas. Após a secagem, o *okara* seco foi moído em moinho de facas IKA A11 Basic, sendo denominado farinha integral de *okara*. A farinha integral de *okara* foi desengordurada pelo método de Sze-Tao e Sathe (2004) modificado por Ogunwolu et al. (2009). Em um erlenmeyer, foram adicionados a farinha de *okara* e hexano na proporção de 1:10 (m/v) sob agitação em mesa agitadora orbital MA 140 CFT a 300 rpm por 2 horas (o processo foi repetido três vezes). A farinha foi filtrada sob vácuo utilizando papel de filtro e seca em temperatura ambiente ($\approx 25^\circ\text{C}$) por 12 horas.

ABSORÇÃO DE ÁGUA PELOS GRÃOS DE SOJA DURANTE A MACERAÇÃO

A absorção de água pelos grãos durante a etapa de maceração para produção de *okara* foi calculada pela diferença entre a massa dos grãos macerados

e a massa inicial. Foi expressa em g de água absorvida/1000 g de grão (BENASSI; BENASSI; PRUDENCIO, 2011).

COMPOSIÇÃO QUÍMICA

O conteúdo de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas foram determinados segundo a AOAC (1995). Os carboidratos foram determinados por diferença. O conteúdo de proteínas foi obtido por meio do fator de conversão de 6,25. Os resultados foram expressos em base seca (b.s.), exceto umidade, em g/100 g de amostra.

RENDIMENTO DAS FARINHAS INTEGRAL E DESENGORDURADA DE OKARA

O rendimento das farinhas integral ou desengordurada de *okara* foi determinado como porcentagem da farinha em relação à massa inicial de grãos.

MEDIDAS DE COR

Os parâmetros de cor L^* (luminosidade), onde 0 = preto e 100 = branco, a^* (componente vermelho - verde) e b^* (componente amarelo - azul) das farinhas desengorduradas de *okara* foram determinadas em colorímetro (Konica Minolta CR 400), com geometria 45/0 e iluminante CIE D65. A tonalidade cromática, h° , foi calculada pela equação $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$, onde 0° = vermelho puro, 90° = amarelo puro, 180° = verde puro e 270° = azul puro.

SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DA FARINHA DESENGORDURADA DE OKARA EM DIFERENTES PHS

Um grama de amostra foi suspenso em 50 mL de água destilada, ajustando-se o pH de 2 a 10 com HCl 1N ou NaOH 1N e a suspensão foi agitada por 30 minutos em mesa agitadora orbital MA 140 CFT (125 rpm à temperatura ambiente), centrifugada a 5000 x g por 20 minutos e filtrada em papel filtro. As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl (KAMIZAKE; VARÉA;

PRUDENCIO, 2014). O resultado foi expresso como g de proteína solúvel por 100 g de proteínas totais na amostra. O fator de conversão foi 6,25.

PH DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE OKARA

O pH das farinhas homogeneizadas em água foi determinado em um potenciômetro digital (HANNA, HI 3220) previamente calibrado com soluções tampão fosfato de pH 4,0 e 7,0 (KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram conduzidos de acordo com o delineamento inteiramente casualizado, com duas repetições e as análises realizadas em triplicata em cada repetição do experimento. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey no nível de 5% de significância, utilizando o programa *Statistica 7.0* (StatSoft, Tulsa, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS GRÃOS DE SOJA

A composição química da soja controle e armazenada está na Tabela 1. O conteúdo de umidade aumentou ao longo do envelhecimento. Este aumento se deve ao equilíbrio higroscópico com o ambiente de alta umidade (84%), empregado para o envelhecimento dos grãos (PACHECO, 1998). No quinto mês de envelhecimento observou-se que a adsorção de água pelos grãos se manteve estável até o mês seguinte. Estes resultados estão condizentes com os observados por Hou e Chang (2004c), Kong et al. (2008) e Kamizake, Varéa e Prudencio (2014).

Tabela 1 - Composição química dos grãos de soja BRS 257 controle* e envelhecida em diferentes tempos**.

TEMPO (mês)	Umidade	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	Carboidratos
Controle	9,70 ^e ± 0,22	42,38 ^a ± 1,03	24,36 ^a ± 1,33	5,20 ^c ± 0,04	28,06 ^b ± 1,68
1	14,98 ^d ± 0,12	42,16 ^a ± 0,74	22,16 ^{ab} ± 1,54	5,14 ^{cd} ± 0,05	30,54 ^b ± 1,71
2	14,73 ^d ± 0,07	42,32 ^a ± 1,83	22,52 ^a ± 0,46	5,03 ^d ± 0,12	30,13 ^b ± 1,89
3	16,31 ^{bc} ± 0,31	42,62 ^a ± 2,38	21,54 ^{ab} ± 1,29	5,52 ^b ± 0,12	30,32 ^b ± 2,71
4	16,06 ^c ± 0,56	42,84 ^a ± 0,90	21,89 ^{ab} ± 1,38	5,74 ^a ± 0,09	29,53 ^b ± 1,65
5	16,99 ^a ± 0,19	41,27 ^{ab} ± 0,57	20,04 ^b ± 1,22	5,05 ^{cd} ± 0,09	33,64 ^a ± 1,35
6	16,79 ^{ab} ± 0,09	39,78 ^b ± 0,64	20,38 ^b ± 0,49	5,44 ^b ± 0,05	34,40 ^a ± 0,81

Médias de duas repetições e três determinações em cada repetição.

Carboidratos obtidos por diferença.

Resultados expressos em g/100 g de amostra em base seca (exceto umidade).

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

O menor conteúdo de proteínas foi observado somente em grãos com seis meses de armazenamento. Liu et al. (2008) notaram, em soja armazenada em condições adversas (88% UR e 30°C), redução a partir do terceiro mês de envelhecimento, sendo mais acentuada no sexto mês. No estudo de Hou e Chang (2004c) foram verificadas pequenas variações durante o armazenamento em condições adversas (84% UR e 30°C), embora não tenha sido confirmada nenhuma tendência de aumento ou diminuição. Enquanto que, Kamizake, Varéa e Prudencio (2014), em soja armazenada nas mesmas condições, notaram aumento no oitavo e nono mês para cultivar Coodetec 214 e nenhuma variação para BRS 267.

Houve redução no teor de lipídeos, que pode ter ocorrido devido a sua decomposição por oxidação ou hidrólise durante o armazenamento (ALENCAR et al., 2010). Em pesquisas empregando-se as mesmas condições de armazenamento, foi observado o mesmo comportamento por Kamizake, Varéa e Prudencio (2014), e comportamento inverso por Hou e Chang (2004c), onde houve aumento do conteúdo lipídico.

O conteúdo de carboidratos aumentou e o de cinzas variou ao longo do envelhecimento, porém não apresentou nenhuma tendência. Kamizake, Varéa e Prudencio (2014) também observaram aumento no conteúdo de carboidratos para cultivar BRS 267 a partir do oitavo mês de envelhecimento (30°C e 84% UR), no entanto houve comportamento distinto do presente estudo para o conteúdo de cinzas, onde os autores relataram aumento no oitavo mês.

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO DE SOJA E OKARA

Em grãos controle, a absorção de água após 12 horas de hidratação foi de 1259,02 g/1000 g de grãos (Tabela 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Benassi, Benassi e Prudencio (2011) após a maceração de grãos da mesma variedade estudada (BRS 257) durante a produção de *tofu* e por Kamizake, Yamashita e Prudencio (2014) nas cultivares BRS 267 e Coodetec 214.

A partir do primeiro mês de envelhecimento houve decréscimo de água absorvida pelos grãos (Tabela 2). Este comportamento foi observado nos estudos de Yousif et al. (2002) e Kong et al. (2008). A capacidade dos grãos absorver água é influenciada pela permeabilidade e integridade do tegumento e dos cotilédones, sendo que o primeiro é responsável por regular o processo de absorção e o segundo pela capacidade de hidratação. Assim, o decréscimo de absorção de água pode estar relacionado a alterações morfológicas nos tecidos dos grãos, ocorridas durante o armazenamento (POPINIGIS, 1985; YOUSIF et al., 2002; CAVARIANI, 2009).

Em estudos anteriores, empregando eletromicrografias de varredura (MEV), foram notadas alterações na espessura das camadas das células paliçádicas, hipodérmicas e parenquimáticas do tegumento e alterações na superfície das células paliçádicas dos cotilédones de grãos de soja armazenados em elevada temperatura e UR. Danos causados à membrana celular, além de diminuir a pressão de turgência, também permitem a lixiviação de minerais para água de maceração. Outros fatores como a desnaturação proteica também podem ter contribuído para menor absorção de água pelos grãos envelhecidos durante a maceração (LIU, 1995; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008; KAMIZAKE; PRUDENCIO; YAMASHITA, 2014).

Tabela 2 - Absorção de água pelos grãos, e rendimento e conteúdo proteico de extratos e *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.

TEMPO (mês)	Absorção de água pelos grãos (g/1000 g de grãos)	Volume de extrato (mL)	Massa de <i>okara</i> úmido (g)	Rendimento de farinha integral de <i>okara</i> (%)	Proteínas (g/100 g, b.s.)	
					Extrato de soja	Farinha integral de <i>okara</i>
Controle	1259,02 ^a ± 14,34	9575,00 ^a ± 35,36	1137,86 ^b ± 104,11	20,38 ^b ± 1,37	36,81 ^a ± 1,74	21,56 ^c ± 0,16
1	1077,34 ^{bc} ± 23,00	9480,00 ^a ± 678,82	1036,93 ^b ± 55,68	19,82 ^b ± 1,47	35,59 ^a ± 3,64	21,66 ^c ± 0,47
2	1105,22 ^b ± 18,48	9690,00 ^a ± 339,41	1054,02 ^b ± 33,98	20,39 ^b ± 0,66	37,47 ^a ± 3,53	22,15 ^c ± 0,36
3	1035,94 ^{cd} ± 4,50	9075,00 ^a ± 148,49	1009,46 ^b ± 8,27	19,53 ^b ± 0,51	37,42 ^a ± 3,49	23,21 ^c ± 0,86
4	988,71 ^{de} ± 2,65	8870,00 ^a ± 42,43	1117,82 ^b ± 33,49	22,17 ^{ab} ± 1,51	34,40 ^a ± 2,62	25,52 ^b ± 1,04
5	930,68 ^f ± 12,47	9010,00 ^a ± 226,27	1203,77 ^b ± 31,81	23,77 ^{ab} ± 2,46	26,34 ^b ± 1,60	27,13 ^b ± 0,74
6	952,55 ^{ef} ± 7,31	8710,00 ^a ± 127,28	1586,51 ^a ± 0,78	28,93 ^a ± 3,18	17,09 ^c ± 1,03	33,38 ^a ± 1,88

Médias de duas repetições, exceto proteínas.

Proteínas (extrato de soja e farinha integral): médias com duas repetições e três determinações em cada repetição.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

Não houve diferença ($p > 0,05$) de volume obtido de extrato ao longo do envelhecimento da soja, apesar da diferença de 865 mL entre o volume de extrato do controle e de seis meses de armazenamento (Tabela 2), causada pela variabilidade entre as repetições na elaboração do produto.

A partir de 1000 g de soja controle, foram produzidos 1138 g de *okara* úmido (Tabela 2), conforme o esperado, pois se estima que a cada quilo de grão empregado para produção de extrato de soja, gera 1100 g de *okara* fresco (O'TOOLE, 1999).

Somente os grãos envelhecidos por seis meses geraram maior quantidade de *okara* úmido. Após a secagem, para obtenção da farinha integral, manteve-se no mesmo comportamento, ou seja, houve maior rendimento de farinha a partir de grãos envelhecidos por seis meses (Tabela 2). Tem sido relatado que extratos de soja envelhecida apresentam menor conteúdo de sólidos, tais como proteínas, carboidratos e lipídeos (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988b; HOU; CHANG, 1998; KONG et al., 2008; KONG; CHANG, 2013). Portanto, pode-se inferir que os sólidos ficaram retidos no *okara*, conforme indicado por Thomas, deMan e deMan (1989).

Dentre os componentes sólidos, as proteínas são de grande importância sobre o aspecto nutricional e tecnológico. Nos extratos, notou-se sua menor extração e maior retenção na farinha integral de *okara* com o envelhecimento dos grãos. Tais observações foram a partir do quinto mês para o extrato e a partir do quarto para farinha integral (Tabela 2). A menor extração de proteínas a partir de soja envelhecida tem sido relatada por diversos estudos (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988b; THOMAS; deMAN; deMAN, 1989; HOU; CHANG, 1998; KONG et al., 2008; KONG; CHANG, 2013). Thomas, deMan e deMan (1989) também constataram maior conteúdo proteico em *okara* de soja velha. A menor extração de proteínas a partir de grãos envelhecidos tem sido justificada pela sua desnaturação e ou agregação causada pelo aumento de acidez no tecido a partir de compostos originados de processos fisiológicos como oxidação e hidrólise de lipídeos (HOU; CHANG, 1998, 2004a, 2004b; KONG et al., 2008; KONG; CHANG, 2013; KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

COR DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE OKARA

A partir do quinto mês de armazenamento dos grãos, as farinhas apresentaram redução nos valores de L* (luminosidade), enquanto que a redução nos valores de h° (tonalidade cromática) ocorreu a partir do terceiro mês de envelhecimento dos grãos (Tabela 3). A diminuição de ambos os parâmetros indicaram que as farinhas obtidas de grãos mais velhos eram mais escuras e vermelhas.

Dados na literatura indicam que o envelhecimento leva ao escurecimento dos grãos (SAIO et al., 1980; NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a; HOU; CHANG, 2004c; KAMIZAKE; YAMASHITA; PRUDENCIO, 2014; YOUSIF, 2014) e de seus produtos (extrato de soja e *tofu*) (THOMAS; deMAN; deMAN, 1989; HOU; CHANG, 1998; HOU; CHANG, 2004c; LIU; CHANG, 2012). O mesmo comportamento foi observado, no presente estudo, nas farinhas desengorduradas de *okara* de soja envelhecida, mesmo que para sua obtenção os grãos tiveram que passar por vários procedimentos (extração, secagem, moagem e desengorduramento).

Tabela 3 - Parâmetros de cor das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.

TEMPO (mês)	Parâmetros	
	L*	h°
Controle	67,27 ^a ± 2,55	84,25 ^a ± 0,32
1	67,33 ^a ± 1,43	83,56 ^{ab} ± 0,15
2	65,37 ^a ± 2,20	83,49 ^b ± 0,71
3	65,95 ^a ± 1,21	82,44 ^c ± 0,49
4	66,06 ^a ± 1,59	82,15 ^c ± 0,63
5	59,59 ^b ± 0,82	81,28 ^d ± 0,32
6	60,56 ^b ± 2,43	80,33 ^e ± 0,56

Médias com duas repetições e três determinações em cada repetição.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

L* = luminosidade (0 = preto; 100 = branco); h° (tonalidade cromática) = $\arctan(b^*/a^*)$, 0° = vermelho puro; 90° = amarelo puro; 180° = verde puro; 270° = azul puro.

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

A mudança de cor durante o armazenamento de grãos tem sido relacionada principalmente ao escurecimento enzimático, em que há substratos fenólicos e o oxigênio e posterior polimerização de compostos fenólicos, bem como à reação de *Maillard*, entre proteínas e açúcares levando a formação de compostos

escuros (FRIEDLANDER; NAVARRO, 1972; NOZZOLILLO; BEZADA, 1984; NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988a; HOU; CHANG, 1998).

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE *OKARA*

Não houve diferença de rendimento de farinha desengordurada de *okara* entre os tempos de envelhecimento (Tabela 4), provavelmente devido à variabilidade ocorrida entre as duas repetições do experimento e/ou menor conteúdo de lipídeos a partir do quarto mês.

O conteúdo de umidade das farinhas situou-se entre 10,26 e 12,39 g/100 g. Com o envelhecimento dos grãos, o conteúdo de cinzas, carboidratos e lipídeos reduziu nas farinhas desengorduradas de *okara* (Tabela 4). Os lipídeos podem ter sido decompostos por reações enzimáticas e não enzimáticas durante o envelhecimento dos grãos (ALENCAR et al., 2010; ARAÚJO, 2011).

Nota-se que o conteúdo de proteínas das farinhas desengorduradas de *okara* foi maior a partir do quarto mês de armazenamento do grão e que no sexto mês este valor foi 61% superior ao do controle (Tabela 4), seguindo a mesma tendência observada no conteúdo proteico da farinha integral (Tabela 2).

Tabela 4 - Rendimento e composição química das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.

TEMPO (mês)	Rendimento (%)	Umidade	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	Carboidratos
Controle	17,08 ^a ± 0,95	12,39 ^a ± 1,61	23,47 ^c ± 0,25	1,52 ^a ± 0,37	4,79 ^a ± 0,20	70,22 ^a ± 0,49
1	18,12 ^a ± 1,49	10,26 ^c ± 0,63	23,48 ^c ± 0,81	1,97 ^a ± 0,56	4,22 ^b ± 0,24	70,33 ^a ± 1,01
2	18,18 ^a ± 0,38	10,56 ^{bc} ± 0,62	24,82 ^c ± 0,56	1,56 ^a ± 1,13	4,18 ^b ± 0,15	69,44 ^a ± 1,27
3	18,00 ^a ± 0,33	11,18 ^{abc} ± 0,25	24,82 ^c ± 1,10	1,46 ^a ± 0,63	4,00 ^b ± 0,15	69,72 ^a ± 1,28
4	20,38 ^a ± 1,78	11,45 ^{abc} ± 0,47	27,93 ^b ± 0,88	0,04 ^b ± 0,07	3,78 ^{cd} ± 0,19	68,25 ^a ± 0,90
5	20,90 ^a ± 1,54	11,82 ^{ab} ± 0,35	29,70 ^b ± 2,41	0,00 ^b ± 0,00	3,17 ^e ± 0,13	67,13 ^a ± 2,41
6	24,54 ^a ± 3,51	10,57 ^{bc} ± 0,64	37,77 ^a ± 1,66	0,00 ^b ± 0,00	3,76 ^d ± 0,10	58,47 ^b ± 1,66

Médias com duas repetições e três determinações em cada repetição, exceto rendimento.

Rendimento: médias de duas repetições

Carboidratos por diferença.

Resultados expressos em g/100 g de amostra em base seca (exceto umidade).

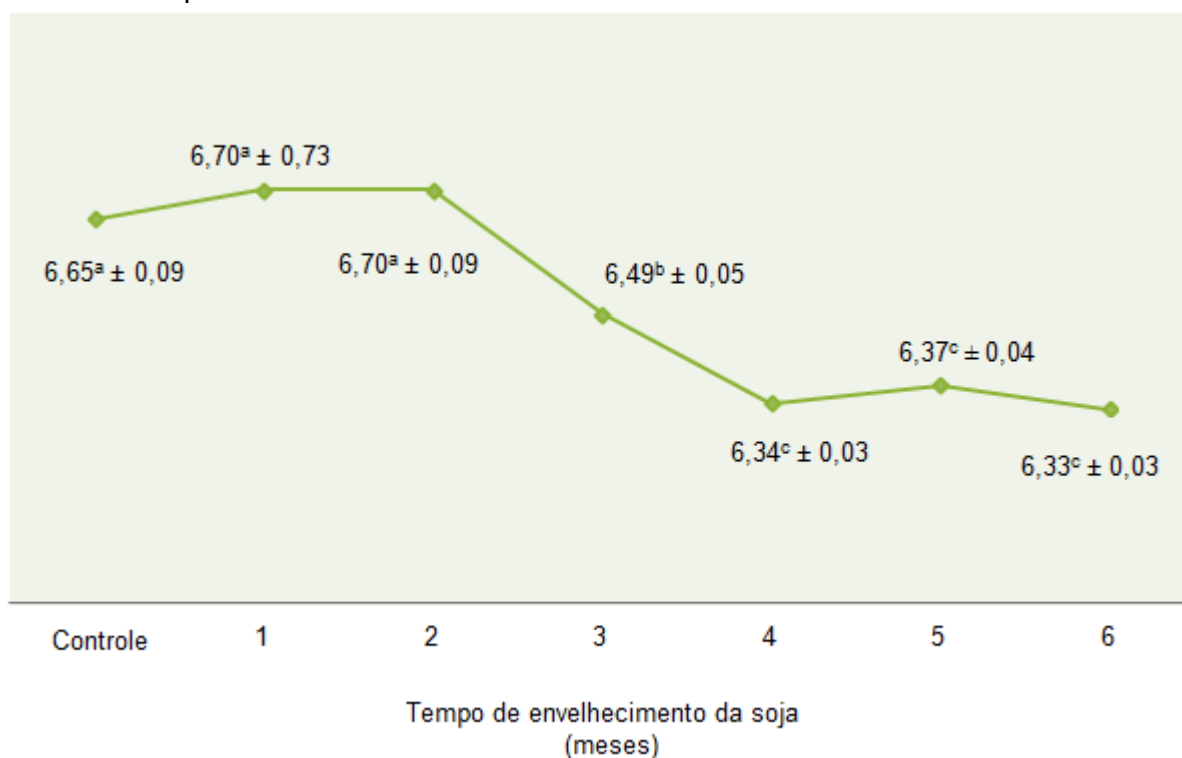
Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

PH DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE OKARA

Estudos indicam que durante o envelhecimento há aumento de acidez ou redução de pH nos tecidos dos grãos e de modo consequente, nos extratos de soja (SAIO et al., 1980; THOMAS; deMAN; deMAN, 1989; LIU, 1995; HOU; CHANG, 1998; KONG et al., 2008). Este comportamento também foi observado nas farinhas desengorduradas de *okara* do presente estudo (Figura 1), onde o pH do controle era de 6,65 e reduziu para 6,33 na farinha de grãos com seis meses de envelhecimento.

Figura 1 - pH das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.



Médias com duas repetições e três determinações em cada repetição.

Letras diferentes em cada tempo de envelhecimento indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

Alguns processos fisiológicos que ocorrem durante o envelhecimento podem levar a formação de compostos ácidos nos grãos e consequentemente serem transferidos em seus produtos (KONG et al., 2008; ALENCAR; FARONI, 2011; KAMIZAKE; YAMASHITA; PRUDENCIO, 2014; KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014). Durante o armazenamento, ocorre a oxidação lipídica levando

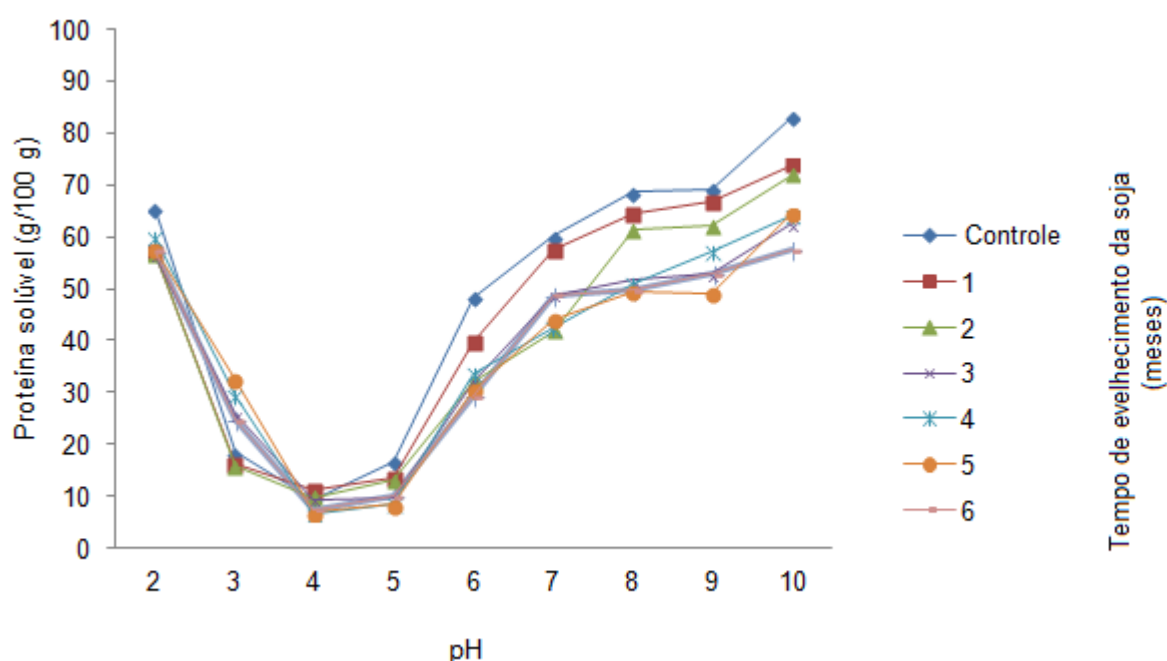
a formação de hidroperóxidos que são rapidamente decompostos em aldeídos, cetonas, alcoóis, hidrocarbonetos e ésteres. A fração lipídica dos grãos também pode sofrer hidrólise pela água ou por enzimas lipolíticas ocasionando o rompimento de ligações ésteres dos triacilgliceróis, que resultam na formação de ácidos graxos livres. Outros fatores como a hidrólise da fitina e das proteínas, também podem contribuir para redução do pH (LIU, 1995).

SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE OKARA EM DIFERENTES PHs

O perfil de solubilidade das proteínas das farinhas desengorduradas de *okara* (Figura 2), indicou maior solubilidade em pHs extremos (2 e 10) e menor solubilidade na faixa de 4 e 5, sendo semelhante aos das proteínas dos grãos (SEIBEL; BELÉIA, 2009). Em *okara*, Ma et al. (1997), Grizotto et al. (2010) e Grizotto e Aguirre (2011) obtiveram a mesma tendência observada neste trabalho.

Notou-se que na fração proteica do *okara*, a solubilidade em diferentes pHs diminuiu com o tempo de envelhecimento dos grãos, assim como ocorre com as proteínas totais dos grãos (KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

Figura 2 - Perfil de solubilidade proteica em diferentes pHs das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.



*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

Em pHs extremos, 2 e 10, o percentual de proteínas solúveis na farinha reduziu de 65,19 para 57,32% e de 82,94 para 57,54% respectivamente, após seis meses de armazenamento dos grãos. Destacando-se a faixa de pH da maioria dos alimentos (entre 6 e 7), a solubilidade passou de 48,22% (amostra controle) para 29,41% (amostra obtida de grãos com seis meses de armazenamento) em pH 6, e de 60,09% (amostra controle) para 48,77% (amostra obtida de grãos com seis meses de armazenamento) em pH 7. O perfil de solubilidade das proteínas de *okara* de soja envelhecida foi semelhante ao relatado para proteínas totais dos grãos nas mesmas condições. Durante o armazenamento de grãos, em decorrência do aumento de acidez, as proteínas adquirem uma nova conformação. Alguns estudos sugerem uma desnaturação parcial, onde as moléculas desdobram ou expandem expondo mais grupamentos hidrofóbicos (DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999; KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014). Outros indicam uma conformação caracterizada por um maior dobramento e agregação, que resulta na redução de solubilidade (HOU; CHANG, 2004a, 2004b; KONG; CHANG, 2013). Tais diferenças podem estar relacionadas ao tempo, temperatura e UR de armazenamento.

A solubilidade proteica é um parâmetro importante para avaliar a desnaturação por diferentes causas, além de ser um indicador do uso potencial do ingrediente (DAMODARAN, 2010), assim o *okara* de soja envelhecida poderia ter sua aplicação mais limitada em sistemas alimentícios. Porém, ainda são necessários mais estudos com a finalidade de investigar se estas perdas qualitativas (pH, cor e solubilidade proteica) identificadas no presente estudo, podem de fato, ocasionar variações significativas na aplicabilidade e aceitabilidade do coproduto em sistemas alimentícios.

CONCLUSÃO

O envelhecimento dos grãos de soja ocasiona alterações na composição química dos grãos, do extrato e das farinhas integral e desengordurada de *okara*. Provoca redução na absorção de água pelos grãos, sem alterar o volume de extrato, mas com maior rendimento de *okara* úmido e farinha integral, porém após o desengorduramento o rendimento é o mesmo. A farinha desengordurada de *okara* de soja envelhecida é mais escura, mais ácida, apresenta maior conteúdo proteico, mas sua solubilidade é menor que na farinha de soja nova.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D. Storage of soybeans and its effects on quality of soybean sub-products. In: KREZHOVA, D. **Recent trends for enhancing the diversity and quality of soybean products**. Croacia: InTechOpen, 2011. p. 47 - 66.
- ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D.; PETERNELLI, L. A.; SILVA, M. T. C.; COSTA, A. R. Influence of soybean storage conditions on crude oil quality. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 303 - 308, 2010.
- AOAC. **Official Methods of Analysis**. 16. ed. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists International, 1995.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos**. 5. ed. Viçosa: Editora UFV, 2011.
- BENASSI, V. T.; BENASSI, M. T.; PRUDENCIO, S. H. Cultivares brasileiras de soja: características para a produção de tofu e aceitação pelo mercado consumidor. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, p. 1901 - 1914, 2011.
- BOWLES, S.; DEMIATE, I. M. Caracterização físico-química de *okara* e aplicação em pães do tipo francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 652 - 659, 2006.
- CAVARIANI, C.; TOLEDO, M. Z.; RODELLA, R. A.; FRANÇA NETO, J. B.; NAKAGAWA, J. Velocidade de hidratação em função de características do tegumento de sementes de soja de diferentes cultivares e localidades. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p. 30 - 39, 2009.
- CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. F.; PINHEIRO, A. C. M.; CLEMENTE, P. R.; LIMA, M. A. C. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 643 - 548, 2007.
- CUNHA, M. A. A.; ANDRADE, A. C. W.; FERMIANI, P. A.; BURATTO, A. P. Barras alimentícias formuladas com resíduo de soja. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 1, n. 2, p. 89 - 96, 2010.
- CUNHA, M. A. A.; PERIN, C.; SANGALLI, R.; DIAS, C. A.; BEUX, S. Produção de biscoitos com subproduto de soja (*okara*). **Synergismus Scientifica UTFPR**, v. 2, p. 1 - 4, 2007.
- DAMODARAN, S. Aminoácidos, peptídeos e proteínas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 169 - 262.
- DONADEL, M. E.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, 1999.

FRIDLANDER, A.; NAVARRO, S. The role of phenolic acids in the browning, spontaneous heating and deterioration of stored soybeans. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 28, n. 7, p. 761 - 763, 1972.

GOLBITZ, P.; JORDAN, J. Soyfoods: Market and Products. In: RIAZ, M. N. **Soy Applications in Food**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2006. p. 1 - 22.

GRIZOTTO, R. K.; AGUIRRE, J. M. Study of the flash drying of the residue from soymilk processing-“Okara”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, p. 645 - 653, 2011.

GRIZOTTO, R. K.; ANDRADE, J. C.; MIYAGUSKU, L.; YAMADA, E. A. Physical, chemical, technological and sensory characteristics of Frankfurter type sausage containing okara flour. **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 3, p. 538 - 546, 2012.

GRIZOTTO, R. K.; RUFÍ, R. G. C.; YAMADA, E. A.; VICENTE, E. Evaluation of the quality of a molded sweet biscuit enriched with *okara* flour. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 270 - 275, 2010.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 12, p. 4798 - 4805, 1998.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3792 - 3800, 2004a.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Structural characteristics of purified β -Conglycinin from soybeans stored under four conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7931 - 7937, 2004b.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Storage conditions affect soybean color, chemical, composition and tofu qualities. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 28, p. 473 - 488, 2004c.

KAMIZAKE, N. K. K.; YAMASHITA, F.; PRUDENCIO, S. H. Physical alterations of soybean during accelerated and natural aging. **Food Research International**, v. 55, p. 55 - 61, 2014.

KAMIZAKE, N. K. K.; VARÉA, G. S.; PRUDENCIO, S. H. Physicochemical properties of aged soybean components. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 12, n. 2, p. 263 - 268, 2014.

KONG, F.; CHANG, S. K. C.; LIU, Z.; WILSON, L. A. Changes of soybean quality during storage as related to soymilk and tofu making. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 3, p. 134 - 144, 2008.

- KONG, F.; CHANG, S. K. C. Changes in protein characteristics during soybean storage under adverse conditions as related to *tofu* making. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 387 - 393, 2013.
- LAROSA, G.; ROSSI, E. A.; BARBOSA, J. C.; CARVALHO, M. R. B. Aspectos sensoriais, nutricionais e tecnológicos de biscoito doce contendo farinha de "okara". **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 151 - 157, 2006.
- LIU, Z. S.; CHANG, S. K. C. Characteristics of soymilk and tofu of five varieties of soybeans as affected by on-site storage. **Journal of Food Processing Preservation**, v. 36, n. 6, p. 525 - 530, 2012.
- LI, B.; QIAO, M.; LU, F. Composition, nutrition, and utilization of okara (soybean residue). **Food Reviews International**, v. 28, p. 231 - 252, 2012.
- LIU, K. Cellular, biological, and physicochemical basis for the hard-to-cook defect in legumes seeds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 4, p. 263 - 298, 1995.
- LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: Chapman and Hall, 1997.
- LIU, C.; WANG, X.; MA, H.; ZHANG, Z.; GAO, W.; XIAO, L. Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. **Food Chemistry**, v. 111, p. 29 - 37, 2008.
- MA, C. Y. LIU, W. S.; KWOK, K. C.; KWOK, F. Isolation and characterization of proteins from soymilk residue (okara). **Food Research International**, v. 29, n. 8, p. 799 - 805, 1997.
- MADRONA, G. S.; ALMEIDA, A. M. Elaboração de biscoitos tipo cookie à base de okara e aveia. **Revista Tecnológica**, v. 17, p. 61 - 72, 2008.
- NARAYAN, R.; CHAUHAN, G. S.; VERMA, N. S. Changes in the quality of soybean during storage. Part 1 - Effect of storage on some physico-chemical properties of soybean. **Food Chemistry**, v. 27, p. 13 - 23, 1988a.
- NARAYAN, R.; CHAUHAN, G. S.; VERMA, N. S. Changes in the quality of soybean during storage. Part 2-Effect of soybean storage on the sensory qualities of the products made therefrom. **Food Chemistry**, v. 20, p. 181 - 190, 1988b.
- NOZZOLILO, C.; BEZEDA, J. M. Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability and the possible role of soluble tannins in both phenomenon. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 64, p. 815 - 824, 1984.
- OGUNWOLU, S. O.; HENSHAW, F. O.; MOCK, H.; SANTROS, A.; AWONORIN, S. O. Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. **Food Chemistry**, v. 115, p. 852 - 858, 2009.

O'TOOLE, D. K. Characteristics and use of okara, the soybean residue from soy milk production- A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 363 - 371, 1999.

PACHECO, I. A. **Conservação de grãos**. Campinas: Fundação Cargill, 1998.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília: Abeas, 1985.

SAIO, K.; KOBAYAKAWA, K.; KITO, M. Protein denaturation during model storage studies of soybeans and meals. **Cereal Chemistry**, v. 59, n. 5, p. 408 - 412, 1982.

SAIO, K.; NIKKUNI, I.; ANDO, Y.; OTSURU, M.; TERAUCHI, Y.; KITO, M. Soybean quality changes during model storage studies. **Cereal Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 77 - 82, 1980.

SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. Características químicas e funcionalidade tecnológica de ingredientes de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]: carboidratos e proteínas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 113 - 122, 2009.

SILVA, M. A. D.; VIEIRA, R. D.; SANTOS, J. A. Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja, CV. MONSOY 8400¹. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 91 - 99, 2008.

SZE-TAO, K. W. C.; SATHE, S. K. Functional properties and in-vitro digestibility of almond (*Prunus dulcis* L.) protein isolate. **Food Chemistry**, v. 69, p. 153 - 160, 2004.

THOMAS, R.; deMAN, J. M.; deMAN, L. Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 66, n. 6, p. 777 - 782, 1989.

YOUSIF, A. M.; DEETH, H. C.; CAFFIN, N. A.; LISLE, A. T. Effect of storage time and conditions on the hardness and cooking quality of adzuki (*Vigna angularis*). **LWT-Food Science and Technology**, v. 35, p. 338 - 343, 2002.

YOUSIF, A. M. Soybean grain storage adversely affects grain testa color, texture, and cooking quality. **Journal of Food Quality**, v. 37, p.18 - 28, 2014.

ZADERNOWSKI, R.; NOWAK-POLAKOWSKA, H. RASHED, A. A. The influence of heat treatment on the activity of lipo-and-hydrophilic components of oat grain. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 23, p.177 - 191, 1999.

6.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2

PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE OKARA DE SOJA ENVELHECIDA E APLICAÇÃO EM SALSICHA

Bruna Yumi Yoshida e Sandra Helena Prudencio

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito do envelhecimento acelerado de soja sobre as propriedades tecnofuncionais de farinha desengordurada de *okara* (FDO) e a sua aplicação em salsicha. A soja foi armazenada a 30°C e 84% UR por até seis meses. Uma amostra controle foi mantida a - 18°C. As farinhas foram obtidas por secagem e desengorduramento. Ao longo do envelhecimento, os índices de absorção e retenção de água e óleo não apresentaram diferenças significativas, a solubilidade proteica em água, volume de intumescimento e propriedades emulsificantes diminuíram e a densidade aparente e as propriedades espumantes aumentaram. A substituição de 50% da proteína isolada de soja da formulação convencional de salsicha por FDO controle ou de soja envelhecida por seis meses provocaram pequenas alterações no rendimento, cor e composição química dos produtos. O teste de aceitação de atributos mostrou que as salsichas foram bem aceitas com notas entre 6 e 7 em escala hedônica de 9 pontos e que mostraram apreciação semelhante em relação a aparência, aroma e textura. A salsicha com FDO de soja envelhecida por seis meses foi ligeiramente menos apreciada em relação ao sabor, o que impactou na avaliação global.

Palavras-chave: Absorção de água. Absorção de óleo. Solubilidade. Emulsão. Espuma. Aceitação.

INTRODUÇÃO

O consumo de extrato de soja e *tofu* cresce a cada ano (PREPARED FOODS, 2007). Com isto, há aumento de volume do resíduo *okara*. Este ainda é pouco utilizado na alimentação humana, sendo seu principal emprego em formulações de ração animal ou descartado como lixo. Contudo, as frações proteica e fibrosa dos grãos, que permanecem no *okara*, são consideradas de alta qualidade, e seu potencial de aplicação tem sido investigado (VISHWANATHAN et al., 2011; LI; QIAO; LU, 2012; STANOJEVIC et al., 2012; SUPPAVORASATIT; LEE; CADWALLADER, 2013).

Vários pesquisadores têm estudado as propriedades tecnofuncionais e a aplicação de *okara* em suas diferentes formas (farinha, farinha desengordurada,

concentrado e isolado proteico) em formulação de produtos alimentícios. Foram observadas boas propriedades emulsificantes, espumantes, de absorção de água e óleo e resultados positivos em testes sensoriais (MA et al., 1997; CHAN; MA, 1999; BOWLES; DEMIATE, 2006; CANTUÁRIA et al., 2008; GRIZOTTO et al., 2010; BOMDESPACHO et al., 2011; VISHWANATHAN et al., 2011; GRIZOTTO et al., 2012; SU et al., 2013). Assim o *okara* pode ser considerado um coproduto.

A qualidade funcional dos componentes está relacionada à qualidade dos grãos. Esta, por sua vez, é influenciada pelas condições de armazenamento. Em condições de temperatura e umidade relativa elevada (27°C e 80% UR) e longos períodos de armazenamento, pode ocorrer o envelhecimento, que são alterações biológicas, químicas e físicas que levam a perdas de qualidade dos grãos, reduzindo seu valor comercial (HOU; CHANG, 2004c; ALENCAR; FARONI, 2011; LIU; CHANG, 2012).

Grãos envelhecidos são mais escuros e duros, apresentam alterações na estrutura anatômica do tegumento, na capacidade de hidratação e maior acidez do tecido, quando comparados com grãos recém-colhidos. Ressalta-se que o envelhecimento pode ocorrer em vários graus, dependendo da qualidade inicial do grão, condições do ambiente de armazenamento (umidade relativa, temperatura e tempo de armazenamento) e da espécie e cultivar do grão (SAIO et al., 1980; SILVA; VIEIRA; SANTOS, 2008; ALENCAR; FARONI, 2011; YOUSIF, 2014).

Quando se emprega soja envelhecida para o preparo de extrato e *tofu* nota-se menor extração de proteínas. Essa redução na extração tem sido associada à redução na solubilidade devido à desnaturação e/ou agregação causada pelo aumento de acidez no tecido (NARAYAN; CHAUHAN; VERMA, 1988; THOMAS; deMAN; deMAN, 1989; HOU; CHANG, 1998; KONG et al., 2008; KAMIZAKE, 2012; BOM, 2013). Hou e Chang (2004a, 2004b) relataram que as proteínas da soja envelhecida tendem a um maior dobramento e encolhimento na estrutura, alterando a flexibilidade molecular, hidrofobicidade de superfície e solubilidade proteica. Kamizake, Varéa e Prudencio (2014), por meio de análise eletroforética, notaram um decréscimo das frações proteicas 7S e 11S de soja envelhecida por oito e nove meses sob condições de 30°C e 84% UR. Segundo os autores, este comportamento deve estar relacionado à diminuição de solubilidade proteica devido à possível desnaturação parcial.

Os estudos das propriedades tecnofuncionais de ingredientes proteicos obtidos de soja envelhecida são limitados (LIU et al., 2008; BOM, 2013). Bom (2013) avaliou as propriedades tecnofuncionais de farinhas desengorduradas de soja de duas cultivares (Coodetec 214 e BRS 267) envelhecidas sob diferentes condições (envelhecimento natural: 17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por dezoito meses; e acelerado: 30°C e 84% UR por nove meses). Com o envelhecimento dos grãos as farinhas apresentaram menor solubilidade proteica em água, aumento na capacidade de absorção de água para cultivar Coodetec 214 e redução para BRS 267 sob envelhecimento natural, não houve alteração na capacidade de absorção de óleo, houve um decréscimo na capacidade emulsificante, aumento na estabilidade emulsificante e decréscimo nas propriedades espumantes.

Não há estudo sobre propriedades tecnofuncionais de *okara* de soja envelhecida e sua aplicação. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do envelhecimento acelerado de soja sobre as propriedades tecnofuncionais de farinha desengordurada de *okara* e sua aplicação em salsicha.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos Laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina. Estudou-se a soja BRS 257 da safra de 2012/13, cultivada na região de Mauá da Serra - PR, Brasil e fornecida pela SL Alimentos. Para produção das salsichas, os ingredientes paleta suína, toucinho, açúcar e sal foram adquiridos em mercado local (Londrina, PR). Os polifosfatos de sódio, antioxidante e fixador de cor, sais de cura e condimento para salsicha, eram da marca Griffith e o lactato da Nutrabem. A carne mecanicamente separada, aroma de fumaça líquida e corante carmim foram fornecidos pela Frios Fattoria e a proteína isolada de soja pela Solae™.

ARMAZENAMENTO DOS GRÃOS DE SOJA

A soja controle (recém-colhida) foi armazenada em freezer a - 18°C. O envelhecimento acelerado foi realizado de acordo com Hou e Chang (2004c), Kamizake, Yamashita e Prudencio (2014) e Kamizake, Varéa e Prudencio (2014). Os grãos foram armazenados em estufa (B.O.D Termal TE 391) por seis meses em

temperatura de 30°C e UR de 84%. Amostras foram retiradas da estufa em intervalos de um mês e transferidas para um freezer a - 18°C para análises posteriores.

PRODUÇÃO DE FARINHA DESENGORDURADA DE OKARA

O *okara* foi elaborado conforme o método de Ciabotti et al. (2007) com algumas modificações. Grãos lavados foram hidratados em água destilada na proporção de 1:5 (m/v) durante 12 horas. Após a maceração, os grãos foram drenados e triturados com água na proporção de 1:8 (m/v) em liquidificador Arno Alegro velocidade máxima, por 3 minutos. O extrato foi separado do *okara* por filtração em tecido voal duplo. O *okara* úmido foi disposto em bandejas para secagem em estufa a 40°C por 24 horas. Após a secagem, o *okara* seco foi moído em moinho de facas IKA A11 Basic. A farinha obtida foi desengordurada com hexano P.A. na proporção de 1:10 (m/v) sob agitação a 300 rpm por 2 horas (o processo foi repetido três vezes). A farinha foi filtrada sob vácuo em papel de filtro e seca em temperatura ambiente ($\approx 25^\circ\text{C}$) por 12 horas (SZE-TAO; SATHE, 2004; OGUNWOLU et al., 2009). A composição química da farinha desengordurada de *okara* (FDO) está no Quadro 1.

Quadro 1 - Composição química das farinhas desengorduradas de *okara* (FDO) de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.

TEMPO (mês)	Umidade	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	Carboidratos
Controle	12,39 ± 1,61	23,47 ± 0,25	1,52 ± 0,37	4,79 ± 0,20	70,22 ± 0,49
1	10,26 ± 0,63	23,48 ± 0,81	1,97 ± 0,56	4,22 ± 0,24	70,33 ± 1,01
2	10,56 ± 0,62	24,82 ± 0,56	1,56 ± 1,13	4,18 ± 0,15	69,44 ± 1,27
3	11,18 ± 0,25	24,82 ± 1,10	1,46 ± 0,63	4,00 ± 0,15	69,72 ± 1,28
4	11,45 ± 0,47	27,93 ± 0,88	0,04 ± 0,07	3,78 ± 0,19	68,25 ± 0,90
5	11,82 ± 0,35	29,70 ± 2,41	0,00 ± 0,00	3,17 ± 0,13	67,13 ± 2,41
6	10,57 ± 0,64	37,77 ± 1,66	0,00 ± 0,00	3,76 ± 0,10	58,47 ± 1,66

Médias com duas repetições e três determinações em cada repetição.

Carboidratos por diferença.

Resultados expressos em g/100 g de amostra em base seca (exceto umidade).

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

Fonte: Yoshida e Prudencio (2014).

PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE *OKARA*

Solubilidade das Proteínas das Farinhas Desengorduradas de *Okara* em Água

Um grama de amostra foi suspenso em 50 mL de água destilada (pH da água = 6,5 - 7,0) e a suspensão foi agitada por 30 minutos em mesa agitadora orbital MA 140 CFT (125 rpm em temperatura ambiente), centrifugada a 5000 x g por 20 minutos e filtrada em papel filtro. As proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator de conversão 6,25 (DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999). O resultado foi expresso como g de proteína solúvel por 100 g de proteínas totais na amostra.

Volume de Intumescimento (VI)

Em proveta graduada de 100 mL foram adicionados 30 mL de água destilada e um grama de amostra. Para completa hidratação de amostra, a suspensão foi agitada por 2 horas e em seguida, deixada em repouso para decantação. O volume ocupado pela amostra na proveta foi denominado volume de intumescimento e expresso em mL/grama de matéria seca (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

Índice de Absorção e Retenção de Água (IARA) e Índice de Absorção e Retenção de Óleo (IARO)

Uma suspensão de 1 g da amostra em 30 mL de água destilada ou óleo de soja comercial a 25°C foi agitada durante 30 minutos a 75 rpm e então, centrifugada a 1000 x g por 10 minutos. O IARA ou IARO foi obtido através da razão entre o peso do sedimento úmido e o peso da matéria seca, e expresso em gramas de água ou óleo absorvido/grama de matéria seca (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

Densidade Aparente

Dez gramas de amostra em uma proveta graduada foram submetidas a batimentos com as pontas dos dedos até que a amostra acomodasse em seu

interior. O volume foi medido e a densidade calculada pela razão entre a massa e volume e expressa em g/mL (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

Capacidade Emulsificante (CE)

Um grama de amostra e 25 mL de água destilada foram homogeneizados por 30 segundos, e óleo de soja comercial foi adicionado (10 mL/min) sob agitação. O ponto de inversão de fase foi registrado visualmente. A CE foi expressa como a quantidade de óleo emulsificado por grama de amostra (SEIBEL; BELÉIA, 2009).

Atividade Emulsificante (AE)

Um grama de amostra, 10 mL de água destilada e 10 mL de óleo de soja comercial foram emulsificados em agitador de haste a 16000 rpm por 1 minuto. A suspensão foi centrifugada a 1500 x g por 5 minutos, o volume da camada emulsificada e o volume total foram medidos. A AE foi calculada como (volume da camada emulsificada/volume total no tubo) x 100 (DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999; SEIBEL; BELÉIA, 2009).

Estabilidade Emulsificante (EE)

Foi preparada uma emulsão seguindo o procedimento anterior. A emulsão foi aquecida em banho-maria a 80°C por 30 minutos e resfriada em água corrente por 15 minutos, e então centrifugada a 1500 x g por 5 minutos. A EE foi calculada como (volume da camada emulsificada remanescente/volume total da camada emulsificada) x 100 (DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999).

Capacidade Espumante (CEsp)

Uma suspensão de 25 mL de água destilada e 0,5 g de amostra foi agitada em Ultra-Turrax (IKA - Tube drive control) a 6000 rpm por 2 minutos e o volume de espuma medido. A CEsp foi expressa como a porcentagem de aumento

de volume com base no volume inicial e final, após a formação de espuma (COFFMANN; GARCIA, 1977).

Estabilidade da Espuma (EEsp)

A EEsp foi determinada após a medida da CEsp, por meio da verificação da redução do volume de espuma após 30, 60, 90 e 120 minutos em repouso sob temperatura ambiente. A EEsp foi expressa porcentagem de redução de espuma (COFFMANN; GARCIA, 1977).

APLICAÇÃO DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE OKARA EM SALSICHAS

Formulação das Salsichas

Foram elaboradas três formulações de salsicha (Quadro 2) por meio da substituição de 0 e 50% da proteína isolada de soja (PI) por FDO de soja controle ou FDO de soja com seis meses de envelhecimento.

Quadro 2 - Formulações das salsichas.

Ingredientes	Formulações (g/100 g de produto)		
	A	B	C
CMS*	39,27	39,27	39,27
Paleta suína	35,00	35,00	35,00
Toucinho	15,00	15,00	15,00
PI**	4,00	2,00	2,00
FDO - Soja controle ***	0,00	2,00	0,00
FDO - Soja envelhecida****	0,00	0,00	2,00
Fécula de mandioca	2,00	2,00	2,00
Sal	1,70	1,70	1,70
Condimento salsicha	1,00	1,00	1,00
Polifosfatos de sódio	0,50	0,50	0,50
Açúcar	0,50	0,50	0,50
Lactato	0,40	0,40	0,40
Antioxidante e fixador de cor	0,30	0,30	0,30
Sais de cura	0,25	0,25	0,25
Corante Carmim	0,05	0,05	0,05
Aroma de fumaça líquida	0,03	0,03	0,03

*Carne mecanicamente separada; **Proteína isolada de soja; ***Farinha desengordurada de *okara* de soja controle; **** Farinha desengordurada de *okara* de soja envelhecida por seis meses.

A = salsicha controle (sem farinha desengordurada de *okara*); B = salsicha com 2% de farinha desengordurada de *okara* de soja controle e C = salsicha com 2% de farinha desengordurada de *okara* de soja envelhecida por seis meses de armazenamento em condições de 30°C e 84% UR.

A paleta suína congelada (paleta suína) foi triturada e homogeneizada em *cutter* Sire, e em seguida foram adicionados os ingredientes na seguinte ordem: polifosfatos de sódio, CMS, sais de cura, sal, toucinho, condimento para salsicha, aroma de fumaça líquida, açúcar, PI (formulação A) ou 50% de PI acrescida de FDO - Soja controle (formulação B) ou acrescida de FDO - Soja envelhecida (formulação C). Em seguida, foram acrescentados o antioxidante e fixador de cor, corante carmim, lactato e fécula de mandioca. Após a formação da massa, esta foi embutida, cozida (temperatura interna da salsicha 72°C) e resfriada em banho de gelo (temperatura interna da salsicha 10°C). As tripas foram retiradas e as salsichas levadas ao banho de corante urucum e a cor foi fixada com solução de ácido fosfórico (0,1%). As salsichas foram resfriadas e embaladas a vácuo.

Rendimento das Salsichas

A relação percentual (%) entre a massa de salsicha cozida e crua representou o rendimento.

Medidas de Cor das Salsichas

A cor interna das salsichas cortadas longitudinalmente foi determinada em colorímetro Konica Minolta CR 400 com iluminante CIE D65, iluminação em ângulo de 45°, ângulo de observação de 0° e observação padrão CIE 10°. Foram medidos os parâmetros de L* (luminosidade), onde 0 = preto e 100 = branco, a* (componente vermelho - verde) e b* (componente amarelo - azul).

Composição Química das Salsichas

A composição química foi determinada segundo a AOAC (1995). Os carboidratos foram obtidos por diferença. Os resultados foram expressos em g/100 g.

Análises Microbiológicas das Salsichas

As análises de Coliformes a 45°C, Estafilococos coagulase positiva, Clostrídio sulfito redutor a 46°C e pesquisa de *Salmonella* sp seguiram a metodologia da Instrução Normativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) nº 62/2003 (BRASIL, 2003).

Análise Sensorial: Teste Aceitação de Atributos das Salsichas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UEL, parecer número 020/2014, CAAE número 28688514.7.0000.5231. As três formulações foram avaliadas em ordem aleatória, e apresentação sequencial em única sessão. As amostras foram codificadas com números de três dígitos. Cem consumidores potenciais avaliaram os atributos aparência, aroma, sabor, textura e aceitação global, utilizando uma escala hedônica de 9 pontos (9 = gostei muitíssimo; 1 = desgostei muitíssimo). A equipe de consumidores era formada por 55% de indivíduos do sexo feminino e 45% do sexo masculino; o grau de instrução variou do 2º completo a pós-graduação, sendo que o nível universitário prevaleceu entre os julgadores (64%). Todos os participantes eram consumidores de salsichas em diferentes frequências (1% diariamente, 1% de 3 a 4 vezes por semana, 22% de 1 a 2 vezes por semana e 76% raramente, ou seja, uma vez por mês ou menos). Salsichas de carne suína, frango e tipo *hot dog* eram os tipos mais consumidos pela equipe. Além disso, 83% dos julgadores eram consumidores de produtos à base de soja, principalmente das bebidas e de *shoyu*. Aproximadamente 77% dos julgadores já haviam participado de testes sensoriais.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos com as farinhas desengorduradas de *okara* foram conduzidos de acordo com o delineamento inteiramente casualizado, com duas repetições. As análises em cada repetição foram realizadas em triplicata.

As análises física e química das salsichas foram realizadas em triplicata e conduzidas ao delineamento inteiramente casualizado.

O experimento sensorial das amostras de salsichas foi conduzido de acordo com o delineamento de blocos completos casualizados, sendo os tratamentos as salsichas e blocos os julgadores.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey no nível de 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o *Statistica 7.0* (StatSoft, Tulsa, USA).

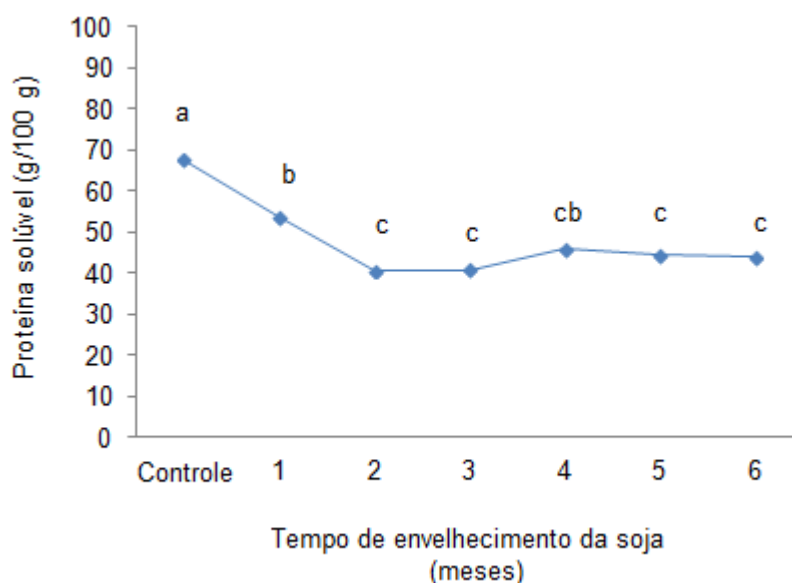
RESULTADOS E DISCUSSÃO

PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE *OKARA*

Solubilidade das Proteínas em Água

Quanto à solubilidade em água das proteínas da FDO, verificou-se redução de 67,6% (controle) para 53,6% no primeiro mês e para 40,7% no segundo mês, mantendo-se constante até o sexto mês de armazenamento da soja (Figura 1), ou seja, o comportamento de solubilidade das proteínas do resíduo (*okara*) foi semelhante ao relatado para proteínas totais de grãos envelhecidos (LIU et al., 2008; BOM, 2013; KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014).

Figura 1 - Solubilidade proteica em água das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.



Médias com duas repetições e três determinações em cada repetição.

Letras diferentes indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

A redução de solubilidade proteica em grãos envelhecidos ocorre provavelmente devido a mudanças conformacionais nas proteínas causadas pelo aumento de acidez no tecido. Dados da literatura indicam que durante o armazenamento por longos períodos, as proteínas desnaturam em diferentes graus, de acordo com o tempo, temperatura e UR do ambiente. Em condições adversas (22 a 40°C e UR de 65 a 84% por nove a doze meses) pode ocorrer agregação proteica, cuja estrutura é mantida por ligação de hidrogênio, interação hidrofóbica e pontes dissulfeto (HOU; CHANG, 2004a, 2004b; KONG et al., 2008; BOM, 2013; KONG; CHANG, 2013), e conseqüentemente apresentam menos sítios disponíveis para ligação das moléculas de água (SAIO; KOBAYAKAWA; KITO, 1982; HOU; CHANG, 2004a, 2004b; KONG; CHANG, 2013). Em condições amenas (17,3 a 30°C e 59 a 93% UR por oito a dezoito meses) pode ocorrer desnaturação sem agregação das moléculas de proteínas resultando também em redução da solubilidade causada por maior exposição de grupamentos hidrofóbicos que na estrutura nativa encontravam-se no interior das moléculas (DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999; BOM, 2013; KONG; CHANG, 2013; KAMIZAKE; VARÉA; PRUDENCIO, 2014). Por meio de análise eletroforética, Kamizake, Varéa e Prudencio (2014), notaram um decréscimo nas frações proteicas (7S e 11S) de soja envelhecida (30°C e 84% UR)

aos oito e nove meses de armazenamento, indicando uma possível desnaturação parcial das proteínas.

Densidade Aparente, Volume de Intumescimento e Índice de Absorção e Retenção de Água ou Óleo

Em relação ao controle notou-se que somente a FDO de soja com seis meses de envelhecimento mostrou maior densidade aparente (0,45 x 0,52 g/mL). Ademais também apresentou menor VI (18,67 x 16,50 mL/g de matéria seca) (Tabela 1). O intumescimento ocorre devido à absorção espontânea de água pelo material por meio da interação da água com grupamentos hidrofílicos de seus componentes (proteínas e polissacarídeos como as fibras). A extensão em velocidade de absorção de água depende da densidade, tamanho, porosidade superficial e interna das partículas do material (AUFFRET et al., 1994; SEIBEL; BELÉIA, 2009; ELLEUCH et al., 2011). Assim o menor intumescimento da FDO de soja com seis meses de envelhecimento pode estar parcialmente associado a sua maior densidade, que pode ser devido a menor porosidade. Alterações moleculares nas proteínas e nas fibras, devido ao envelhecimento da soja, podem ter contribuído para redução na hidratação. A capacidade de ligação de água da proteína, que sofreu desnaturação e agregação, pode diminuir um pouco, em relação à proteína nativa, devido à redução da área superficial e da disponibilidade de grupos hidrofílicos para ligar a água (DAMODARAN, 2010). Não há relatos sobre o efeito de envelhecimento da soja na estrutura molecular das fibras.

Em ingredientes de soja com composição semelhante, mas sem envelhecimento dos grãos, nota-se que os valores de VI observados em todos os tratamentos (18,67 a 16,50 mL/g) foram superiores aos relatados por Baú et al. (2012) (9,7 mL/g) para fibra de soja comercial que continha 41,5% de proteínas e 45,2% de fibras (b.s.), e semelhantes ao observado por Seibel e Beléia (2009) (17,2 mL/g) em fibra de soja que continha 28,2% de proteína 64,6% de carboidratos (b.s.).

O envelhecimento da soja não interferiu no IARA das FDO, uma vez que não foram diferentes do controle, resultando em um valor médio de 10,96 g/g (Tabela 1). Os resultados foram superiores aos relatados por Vishwanathan et al. (2011) para farinha desengordurada de *okara* (2,33 g/g) e concentrado proteico de *okara* (3,57 g/g) de soja não envelhecida. O IARA refere-se à capacidade do

material absorver água (como no intumescimento) e retê-la dentro de uma matriz proteica ou polissacarídica, frente uma força gravitacional ou centrífuga. Está relacionada a interações da água com as moléculas que compõem o material e principalmente pela água presa fisicamente, por exemplo, por força de capilaridade dentro da matriz molecular (AUFFRET et al., 1994; SEIBEL; BELÉIA, 2009; DAMODARAN, 2010; ACUNÃ; GONZÁLES; TORRES, 2012). Os resultados indicam que apesar da menor hidratação, medida pelo VI, o envelhecimento da soja não influenciou a retenção de água da FDO. Em farinha desengordurada de soja, Bom (2013) notou que o envelhecimento natural (17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por dezoito meses) e acelerado (30°C e 84% UR por nove meses) levou ao aumento de absorção e retenção de água para cultivar Coodetec 214, e para a BRS 267 houve redução quando o envelhecimento foi acelerado.

Ingredientes com alta capacidade de absorção e retenção de água como os observados para as FDO, em todos os tempos de armazenamento, podem ser empregados em sistemas alimentícios para evitar a sinérese, melhorando a textura e viscosidade dos produtos (LIU, 1997; VISHWANATHAN et al., 2011).

Tabela 1 - Densidade aparente, volume de intumescimento (VI), índice de absorção e retenção de água (IARA) e índice de absorção e retenção de óleo (IARO) das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.

TEMPO (mês)	Densidade aparente	VI	IARA	IARO
Controle	0,45 ^b ± 0,01	18,67 ^a ± 0,50	10,95 ^a ± 0,75	4,90 ^a ± 0,25
1	0,46 ^b ± 0,00	18,33 ^a ± 0,55	11,03 ^a ± 0,99	4,87 ^a ± 0,20
2	0,43 ^b ± 0,02	18,40 ^a ± 1,52	10,98 ^a ± 0,63	4,85 ^a ± 0,41
3	0,45 ^b ± 0,02	18,60 ^a ± 0,42	10,83 ^a ± 0,33	4,88 ^a ± 0,30
4	0,44 ^b ± 0,02	18,50 ^a ± 1,13	11,05 ^a ± 0,26	4,84 ^a ± 0,22
5	0,46 ^b ± 0,04	17,10 ^{ab} ± 0,85	11,20 ^a ± 0,95	5,17 ^a ± 0,25
6	0,52 ^a ± 0,01	16,50 ^b ± 3,32	10,70 ^a ± 0,49	5,23 ^a ± 0,13

Médias com duas repetições e três determinações em cada repetição.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

Densidade aparente expressa em g/mL.

VI = Volume de intumescimento, expresso em mL/g de matéria seca.

IARA = Índice de absorção e retenção de água, expresso em g de água/g de amostra.

IARO = Índice de absorção e retenção de óleo, expresso em g de óleo/g de amostra.

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

O envelhecimento da soja também não afetou o IARO, uma vez que todos FDO de todos os tempos não apresentaram diferença (Tabela 1) sendo o valor médio de 4,96 g/g. A capacidade de ligação de óleo determinada por Vishwanathan et al. (2011) em farinha desengordurada de *okara* e concentrado proteico de *okara*

foi de 0,78 g/g e 1,97 g/g respectivamente, enquanto que Ma et al. (1997) encontraram valores de 3,0 mL/g e 2,9 mL/g em isolados proteicos de *okara*. Ambos os estudos eram de soja não envelhecida. Bom (2013) observou o mesmo comportamento do presente estudo, em farinhas desengorduradas de soja envelhecida em diferentes condições (envelhecimento natural: 17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por dezoito meses; e acelerado: 30°C e 84% UR por nove meses), onde não foi constatada alteração na capacidade de absorção de óleo.

Propriedades Emulsificantes

A CE variou de 40,8 mL/g (FDO controle) a 33,8 mL/g (FDO de soja armazenada por cinco e seis meses), sendo a redução notada a partir do quarto mês de envelhecimento da soja (Tabela 2). Os valores foram próximos aos relatados por Vishwanathan et al. (2011) em farinha desengordurada de *okara* (32,20 mL/g) e concentrado proteico de *okara* (44,10 mL/g).

Somente aos seis meses de envelhecimento da soja foi observada redução de AE e EE da FDO, sendo os decréscimos de 16% e 26%, respectivamente, em relação à amostra controle (Tabela 2). Estas variações nas propriedades emulsificantes também foram relatadas por Liu et al. (2008) em isolados proteicos obtidos de grãos armazenados a 30°C e 88% UR por oito meses. Já Bom (2013), notou em farinha desengordurada de soja envelhecida em condição natural (18 meses) e adversa (9 meses), decréscimo na capacidade emulsificante, e um aumento na estabilidade emulsificante somente para condição adversa.

Tabela 2 - Propriedades emulsificantes das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.

TEMPO (mês)	CE	AE	EE
Controle	40,77 ^a ± 0,85	72,39 ^a ± 1,67	82,12 ^a ± 1,96
1	39,62 ^{ab} ± 1,25	73,17 ^a ± 5,40	82,31 ^a ± 1,88
2	39,70 ^{ab} ± 1,77	73,38 ^a ± 2,56	82,46 ^a ± 4,42
3	39,10 ^{ab} ± 0,63	71,59 ^a ± 1,50	76,39 ^a ± 3,54
4	37,67 ^b ± 0,67	71,07 ^a ± 0,78	78,01 ^a ± 3,19
5	33,80 ^c ± 0,59	73,01 ^a ± 2,76	78,53 ^a ± 4,06
6	33,89 ^c ± 0,96	60,71 ^b ± 3,13	60,94 ^b ± 1,84

Médias com duas repetições e três determinações em cada repetição.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

CE = Capacidade emulsificante, expresso em mL de óleo/g de amostra.

AE = Atividade emulsificante, expresso em %.

EE = Estabilidade emulsificante, expresso em %.

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

As prováveis alterações na conformação molecular das proteínas de grãos envelhecidos, que levaram a redução de solubilidade (Figura 1) podem ter diminuído a flexibilidade das moléculas, dificultando sua rápida migração e adsorção na interface óleo - água, limitando sua ação como emulsificante (HOU; CHANG, 2004a, 2004b; DAMODARAN, 2010). Apesar da FDO de seis meses de armazenamento ter maior conteúdo de proteínas (Quadro 1), os resultados indicaram que as propriedades emulsificantes das FDO podem ter sido dependentes das propriedades físico-químicas (solubilidade e flexibilidade molecular) das proteínas, e não de seu conteúdo.

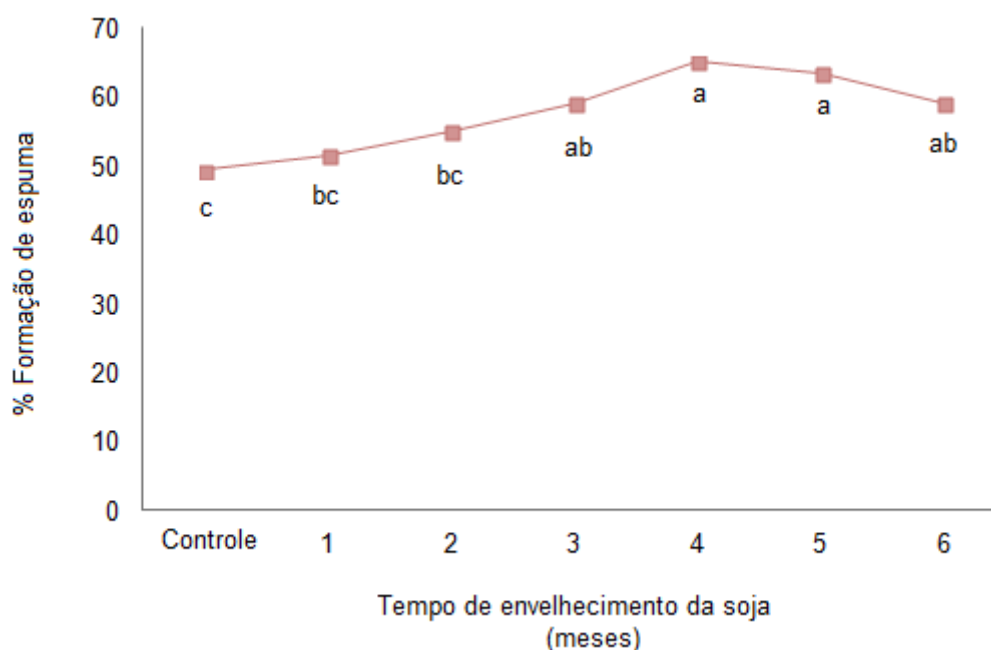
Propriedades Espumantes

A CEsp da FDO aumentou a partir do terceiro mês de envelhecimento dos grãos (Figura 2). Notou-se, também, que todas as espumas (com FDO controle e de sojas envelhecidas) mostraram redução de volume durante os 120 minutos de repouso, porém a redução das espumas com FDO com maior tempo de armazenamento (quatro, cinco e seis meses) foram menores (Figura 3), ou seja, foram mais estáveis. Bom (2013) observou redução na CEsp de farinha desengordurada de soja envelhecida sob condições natural (18 meses) e adversa (9 meses) e menor EEsp para condição adversa.

Com a possível desnaturação e agregação, e conseqüente redução de solubilidade proteica, a CEsp e EEsp poderiam reduzir conforme o ocorrido com as

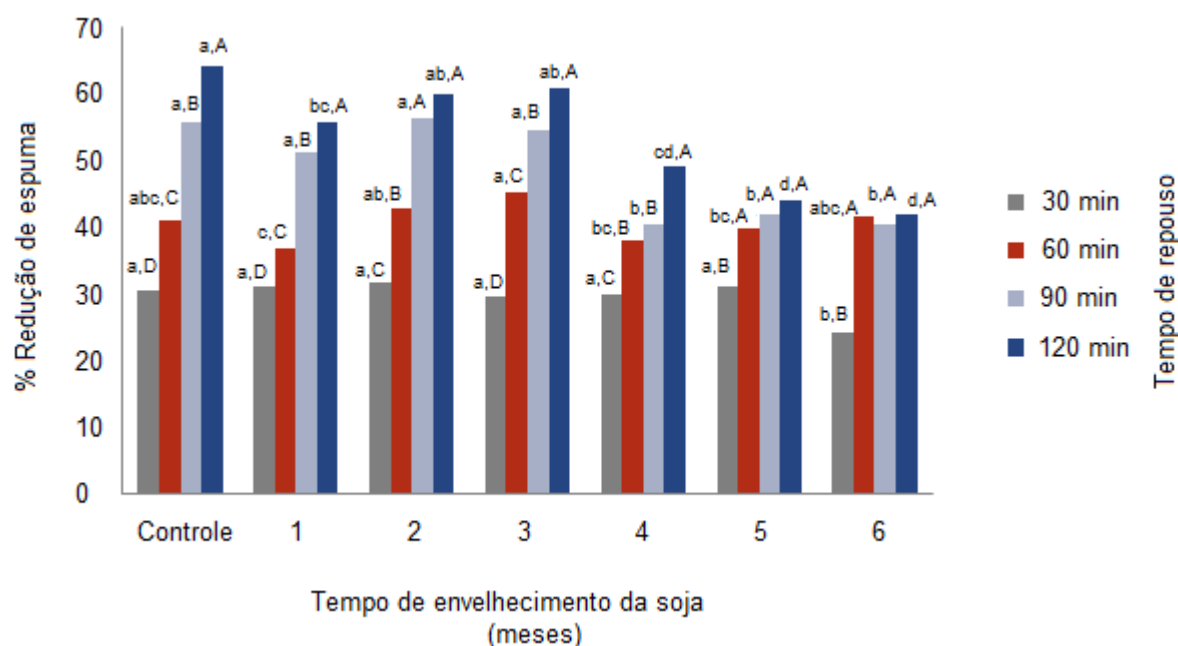
propriedades emulsificantes. No entanto, apesar dos princípios básicos envolvidos na formação e estabilidade de emulsões e espumas serem semelhantes, a energética destas interfaces é diferente e os requerimentos moleculares para a funcionalidade das proteínas não são os mesmos. Proteínas que são bons agentes espumantes podem não ser bons agentes emulsificantes. O comportamento das proteínas nas interfaces é complexo e ainda não bem compreendido. Proteínas agregadas, com falta de interações repulsivas, favorecem interações proteína - proteína e a formação de um filme viscoso na interface ar - água; além disso, uma maior quantidade de proteína é adsorvida na interface devido à falta de repulsão entre a interface e as moléculas em adsorção (DAMODARAN, 2010). Assim esses dois fatores podem ter contribuído com a funcionalidade das proteínas de *okara* de soja envelhecida tanto para formação quanto à estabilidade da espuma.

Figura 2 - Capacidade espumante das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.



Porcentagem de espuma formada em relação ao volume inicial da suspensão.
Médias com duas repetições e três determinações em cada repetição.
Letras diferentes indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).
*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

Figura 3 - Estabilidade das espumas das farinhas desengorduradas de *okara* de soja controle* e envelhecida em diferentes tempos**.



Médias com duas repetições e três determinações em cada repetição.

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$) entre os tempos de armazenamento em um mesmo tempo de repouso da espuma; letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$) entre os diferentes tempos de repouso da espuma em um mesmo tempo de armazenamento.

*Controle: - 18°C, **Envelhecimento acelerado: 30°C e 84% UR.

APLICAÇÃO DAS FARINHAS DESENGORDURADAS DE OKARA EM SALSICHA

Com base nos resultados das propriedades tecnofuncionais, notou-se que os índices de absorção e retenção de água e óleo (Tabela 1) foram as únicas propriedades que não sofreram o efeito do envelhecimento e este foi o critério utilizado para aplicação das FDO (controle e envelhecida por seis meses em condições de 30°C e 84% UR) na formulação de salsichas, uma vez que estas propriedades encontram-se dentre as mais importantes para a classe do produto.

Rendimento das Salsichas

A incorporação da FDO controle como substituto parcial da PI (amostra B) resultou em aumento no rendimento após a cocção das salsichas, em comparação à amostra A (controle sem FDO) (Tabela 3). Bomdespacho et al. (2011) reportaram o mesmo comportamento com a adição de *okara* em hambúrguer

fermentado. O emprego da FDO de soja envelhecida não afetou o rendimento das salsichas uma vez que a formulação C não se diferenciou da A e B. Isto pode estar relacionado à boa capacidade de absorção e retenção de água e óleo do *okara*, mesmo quando obtido de soja velha, o que evitou perdas durante o cozimento.

Tabela 3 - Rendimento e cor das salsichas sem farinha desengordurada de *okara* e com farinha desengordurada de *okara* de soja controle e envelhecida por seis meses.

Amostra	Rendimento (%)	L*	a*	b*
A	87,33 ^b ± 0,76	41,03 ^a ± 1,41	12,87 ^a ± 0,43	7,54 ^c ± 0,23
B	90,82 ^a ± 0,81	43,59 ^a ± 1,14	12,97 ^a ± 0,15	8,03 ^b ± 0,11
C	90,02 ^{ab} ± 0,73	42,74 ^a ± 0,50	12,92 ^a ± 0,26	8,98 ^a ± 0,02

Média de três determinações.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

L* = luminosidade (0 = preto; 100 = branco); a* (- a = verde; + a = vermelho); b* (- b = azul; + b = amarelo).

Amostra A = salsicha controle (sem farinha desengordurada de *okara*); B = salsicha com 2% de farinha desengordurada de *okara* de soja controle (- 18°C) e C = salsicha com 2% de farinha de *okara* de soja armazenada por seis meses a 30°C e 84% UR.

Apesar da PI (ingrediente comumente utilizado na produção de salsicha) apresentar conteúdo de proteínas mais elevado (90%, em base seca) em relação às FDO, os demais componentes não proteicos também contribuem para o rendimento (GLÓRIA; REGITANO-d'ARCE, 2000).

As três formulações não apresentaram diferenças em relação aos parâmetros L* e a*. A salsicha com FDO de soja envelhecida (formulação C) mostrou-se mais amarela (maior valor de b*) que as demais (Tabela 3). Grizotto et al. (2012) também não encontraram variação no parâmetro L* em salsichas tipo Frankfurter com adição de 1,5 e 4,0% de farinha integral de *okara*, mas os parâmetros a* e b* apresentaram pequenas variações entre as amostras.

Apesar da diferença entre as formulações quanto ao parâmetro b*, os valores são próximos. Sendo assim, pode-se dizer que a aplicação das FDO nas salsichas não provocou alterações tão relevantes na cor do produto. Com isto, a etapa de adição de corantes (carmim e urucum) na produção de salsicha, pode ser a mesma utilizada em salsichas comuns, não havendo necessidade em corrigir alterações causadas pela incorporação de novos ingredientes.

Composição Química das Salsichas

A substituição parcial da PI por FDO controle e de soja envelhecida (formulações B e C, respectivamente), provocou algumas alterações na composição química das salsichas (Tabela 4), dentre as mais expressivas, o aumento no teor lipídico e diminuição no teor de proteínas.

Apesar das duas FDO terem absorção e retenção de óleo idênticas (Tabela 1), a FDO controle apresentou as melhores propriedades emulsificantes (Tabela 2), o que pode ter contribuído para maior retenção de gordura durante o processamento, resultando em uma salsicha com maior teor de lipídeos (18,22 g/100 g). O conteúdo de proteínas das salsichas diminuiu com o emprego das FDO, pois ambas possuíam menor conteúdo quando comparadas à PI, que continha 90% de proteínas (base seca).

Tabela 4 - Composição química das salsichas sem farinha desengordurada de *okara* e com farinha desengordurada de *okara* de soja controle e envelhecida por seis meses.

Amostra	Umidade	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	Carboidratos*
A	61,69 ^a ± 0,09	15,73 ^a ± 0,00	15,29 ^c ± 0,20	2,35 ^a ± 0,04	4,94 ^b ± 0,22
B	60,11 ^b ± 0,39	13,08 ^c ± 0,12	18,22 ^a ± 0,16	2,21 ^a ± 0,15	6,38 ^a ± 0,46
C	61,35 ^a ± 0,17	13,77 ^b ± 0,24	16,41 ^b ± 0,17	2,38 ^a ± 0,03	6,09 ^a ± 0,34

Média de três determinações.

*Calculado por diferença.

Resultados expressos em g/100 g de amostra.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

Amostra A = salsicha controle (sem farinha desengordurada de *okara*); B = salsicha com 2% de farinha desengordurada de *okara* de soja controle (- 18°C) e C = salsicha com 2% de farinha desengordurada de *okara* de soja armazenada por seis meses a 30°C e 84% UR.

Embora tenham ocorrido estas variações, as salsichas atenderam aos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 4 de 2000 do MAPA, quanto aos teores médios de umidade (máximo de 65%), proteína (mínimo de 12%), lipídeos (máximo de 30%) e carboidratos (máximo de 7%) (BRASIL, 2000).

Análises Microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas das salsichas atenderam aos padrões exigidos pela Resolução RDC nº 12 de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001).

Análise Sensorial: Aceitação de Atributos

As notas hedônicas dos atributos situaram-se entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente) (Tabela 5), indicando que as três formulações foram aceitas. Não houve diferença de aceitação entre as formulações quanto aos aspectos aparência, aroma e textura. A salsicha C (FDO de soja velha) foi a menos apreciada em relação ao sabor, e isso refletiu na aceitação global.

Apesar de todas as etapas de processamento, alguns componentes de sabor desagradável, formados durante o envelhecimento dos grãos, podem ter sido retidos em baixa concentração na FDO e transferidos para salsicha, mas sem causar grandes prejuízos, pois o produto ainda apresentou boa aceitação (valor hedônico de 6,5 e 6,7) em escala hedônica de 9 pontos. Kamizake (2012) verificou que os produtos preparados com soja envelhecida em duas condições (natural: 17,3 a 24,5°C e 59 a 93% UR por dezoito meses; acelerado: 30°C e 84% UR por nove meses) eram menos aceitos (em relação ao aroma, cor, aparência, textura, sabor e global) do que aqueles preparados com soja nova. Em teste descritivo, o sabor dos *tofus* de soja velha foi caracterizado pelo ranço, adstringência, fermentado e amargo, sendo que tais atributos influenciaram negativamente a aceitação. A alteração no sabor foi justificada por algumas reações que ocorrem nos grãos durante o envelhecimento, como a hidrólise enzimática e oxidação de lipídeos, que levam a formação de ácidos de baixa massa molecular e que são responsáveis pelo ranço, e conversão das isoflavonas glicosídicas para forma agliconas que são mais amargas e adstringentes.

Tabela 5 - Aceitação de atributos sensoriais das salsichas sem farinha desengordurada de *okara* e com farinha desengordurada de *okara* de soja controle e envelhecida por seis meses.

Amostra	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Global
A	6,3 ^a ± 1,4	7,1 ^a ± 1,3	7,1 ^a ± 1,5	6,7 ^a ± 1,6	7,0 ^a ± 1,2
B	6,3 ^a ± 1,5	7,0 ^a ± 1,3	7,5 ^a ± 1,2	6,8 ^a ± 1,6	7,1 ^a ± 1,1
C	6,1 ^a ± 1,5	6,9 ^a ± 1,4	6,7 ^b ± 1,8	6,4 ^a ± 1,7	6,5 ^b ± 1,6

Escala hedônica de 9 pontos (9 = gostei muitíssimo; 1 = desgostei muitíssimo).

Média de 100 julgadores.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

Amostra A = salsicha controle (sem farinha desengordurada de *okara*); B = salsicha com 2% de farinha desengordurada de *okara* de soja controle (- 18°C) e C= salsicha com 2% de farinha desengordurada de *okara* de soja armazenada por seis meses a 30°C e 84% UR.

Grizotto et al. (2012) obtiveram resultados semelhantes em salsichas tipo Frankfurter com adição de farinha de *okara* em diferentes proporções, 1,5 e 4,0%, onde as notas para os atributos cor, aroma, sabor e textura situaram-se entre 5 (gostei ligeiramente) e 6 (gostei moderadamente) da escala hedônica de 7 pontos.

De acordo com os resultados do presente estudo, é possível formular salsichas com a substituição de 50% da PI por FDO controle sem alterar a aceitação e apesar da salsicha com FDO de soja envelhecida ter atingido notas menores para sabor e avaliação global, pode-se considerar positivo o uso do ingrediente na fabricação de salsicha.

CONCLUSÃO

O *okara* de soja envelhecida apresenta algumas propriedades tecnofuncionais (solubilidade proteica em água, volume de intumescimento, densidade aparente e propriedades emulsificantes e espumantes) diferentes daquelas da FDO de soja recém-colhida, mas a absorção e retenção de água e óleo não são afetadas. O emprego de FDO controle e de soja envelhecida como ingrediente de salsicha pode ser considerado positivo, uma vez que o rendimento, cor, composição química e aceitação sensorial das salsichas mostram apenas pequenas variações.

REFERÊNCIAS

ACUÑA, S. P. C.; GONZÁLEZ, J. H. G.; TORRES, I. D. A. Physicochemical characteristics and functional properties of vitabosa (*mucuna deeringiana*) and soybean (*glycine max*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 98 - 105, 2012.

ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D. Storage of soybeans and its effects on quality of soybean sub-products. In: KREZHOVA, D. **Recent trends for enhancing the diversity and quality of soybean products**. Croacia: InTechOpen, 2011. p. 47 - 66.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. 16. ed. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists International, 1995.

AUFFRET, A.; RALET, M. C.; GUILLON, F.; BARRY, J. L.; THIBAUT, J. F. Effect of grinding and experimental conditions on the measurement of hydration properties of dietary fibres. **LWT - Food Science and Technology**, v. 27, n. 2, p. 166 - 172, 1994.

BAÚ, T. R.; SILVA, L. C.; GARCIA, S.; IDA, E. I. Propriedades funcionais tecnológicas das fibras de soja, aveia, trigo e produtos de soja com adição de fibras e fermentados com cultura de kefir. **Semina: Ciência Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 3093 - 3102, 2012.

BOM, N. C. V. **Envelhecimento da soja: Efeitos nas propriedades químicas e funcionais das proteínas**. 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

BOMDESPACHO, L. Q.; CAVALLINI, D. C. U.; CASTRO, A. D.; ROSSI, E. A. O emprego de okara no processamento de "hambúrguer" de frango fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 2, p. 315 - 322, 2011.

BOWLES, S.; DEMIATE, I. M. Caracterização físico-química de okara e aplicação em pães do tipo francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 652 - 659, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, 10 jan. 2001.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 05 abr. 2000. Seção 1, p. 6 - 10.

CANTUÁRIA, C. M.; RIBEIRO, S. C. A.; RIBEIRO, C. F. A.; PARK, K. J.; ARAÚJO, E. A. F. Perfil sensorial de pães de forma enriquecidos com okara. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 10, n. 2, p. 111 - 120, 2008.

CHAN, W. M.; MA, C. Acid modification of proteins from soymilk residue (okara). **Food Research International**, v. 32, p. 119 - 127, 1999.

CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. F.; PINHEIRO, A. C. M.; CLEMENTE, P. R.; LIMA, M. A. C. Características sensoriais e físicas de extratos e tofus de soja comum processada termicamente e livre de lipoxigenase. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 643 - 548, 2007.

COFFMANN, C. N.; GARCIA, V. V. Functional properties and amino acid content of a protein isolated from mung bean flour. **Journal of Food Technology**, v. 12, p. 473, 1977.

DAMODARAN, S. Aminoácidos, peptídeos e proteínas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 169 - 262.

DONADEL, M. E.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, 1999.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterization, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v. 124, p. 411 - 421, 2011.

GLÓRIA, M. M.; REGITANO-d'ARCE, M. A. B. Concentrado e isolado proteico de torta de castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 240 - 245, 2000.

GRIZOTTO, R. K.; ANDRADE, J. C.; MIYAGUSKU, L.; YAMADA, E. A. Physical, chemical, technological and sensory characteristics of Frankfurter type sausage containing *okara* flour. **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 3, p. 538 - 546, 2012.

GRIZOTTO, R. K.; RUFÍ, R. G. C.; YAMADA, E. A.; VICENTE, E. Evaluation of the quality of a molded sweet biscuit enriched with *okara* flour. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 270 - 275, 2010.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 12, p. 4798 - 4805, 1998.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3792 - 3800, 2004a.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Structural characteristics of purified β -conglycinin from soybeans stored under four conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7931 - 7937, 2004b.

HOU, H. J.; CHANG, S. K. C. Storage conditions affect soybean color, chemical, composition and tofu qualities. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 28, p. 473 - 488, 2004c.

KAMIZAKE, N. K. K. **Efeito do envelhecimento de soja (*Glycine max*) sobre as propriedades físicas e químicas dos grãos, extratos e tofus e características sensoriais dos tofus**. 2012. 178 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

KAMIZAKE, N. K. K.; VARÉA, G. S.; PRUDENCIO, S. H. Physicochemical properties of aged soybean components. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 12, n. 2, p. 263 - 268, 2014.

KAMIZAKE, N. K. K.; YAMASHITA, F.; PRUDENCIO, S. H. Physical alterations of soybean during accelerated and natural aging. **Food Research International**, v. 55, p. 55 - 61, 2014.

KONG, F.; CHANG, S. K. C.; LIU, Z.; WILSON, L. A. Changes of soybean quality during storage as related to soymilk and tofu making. **Journal of food science**, v. 73, n. 3, p. 134 - 144, 2008.

LI, B.; QIAO, M.; LU, F. Composition, nutrition, and utilization of okara (soybean residue). **Food Reviews International**, v. 28, p. 231 - 252, 2012.

LIU, K.S. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: Chapman and Hall, 1997.

LIU, Z. S.; CHANG, S. K. C. Characteristics of soymilk and tofu of five varieties of soybeans as affected by on-site storage. **Journal of Food Processing Preservation**, v. 36, n. 6, p. 525 - 530, 2012.

LIU, C.; WANG, X.; MA, H.; ZHANG, Z.; GAO, W.; XIAO, L. Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. **Food Chemistry**, v. 111, p. 29 - 37, 2008.

MA, C. Y. LIU, W. S.; KWOK, K. C.; KWOK, F. Isolation and characterization of proteins from soymilk residue (okara). **Food Research International**, v. 29, n. 8, p. 799 - 805, 1997.

NARAYAN, R.; CHAUHAN, G. S.; VERMA, N. S. Changes in the quality of soybean during storage. Part 2-Effect of soybean storage on the sensory qualities of the products made therefrom. **Food Chemistry**, v. 20, p. 181 - 190, 1988.

OGUNWOLU, S. O.; HENSHAW, F. O.; MOCK, H.; SANTROS, A.; AWONORIN, S. O. Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. **Food Chemistry**, v. 115, p. 852 - 858, 2009.

PREPARED FOODS. **Hains pick a wave**. 2007. Disponível em: <<http://www.preparedfoods.com/articles/hain-picks-a-wave>>. Acesso em: 29 ago. 2014.

SAIO, K.; KOBAYAKAWA, K.; KITO, M. Protein denaturation during model storage studies of soybeans and meals. **Cereal Chemistry**, v. 59, n. 5, p. 408 - 412, 1982.

SAIO, K.; NIKKUNI, I.; ANDO, Y.; OTSURU, M.; TERAUCHI, Y.; KITO, M. Soybean quality changes during model storage studies. **Cereal Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 77 - 82, 1980.

SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. Características químicas e funcionalidade tecnológica de ingredientes de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]: carboidratos e proteínas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 113 - 122, 2009.

SILVA, M. A. D.; VIEIRA, R. D.; SANTOS, J. A. Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja, CV. MONSOY 84001. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 91 - 99, 2008.

STANOJEVIC, S. P.; BARAC, M. B.; PESIC, M. B.; VUCELIC-RADOVIC, B. V. Composition of proteins in okara as a byproduct in hydrothermal processing of soy milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 9221 - 9228, 2012.

SU, S. I. T.; YOSHIDA, C. M. P.; CONTRERAS-CASTILLO, C. J.; QUIÑONES, E. M.; VENTURINI, A. C. Okara, a soymilk industry by-product, as a non-meat protein source in reduced fat beef burgers. **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, v. 33, p. 52 - 56, 2013.

SUPPAVORASATIT, I.; LEE, S.; CADWALLADER, K.R. Effect of enzymatic protein deamidation on protein solubility and flavor binding properties of soymilk. **Journal of Food Science**, v. 78, 2013.

SZE-TAO, K. W. C.; SATHE, S. K. Functional properties and in-vitro digestibility of almond (*Prunus dulcis L.*) protein isolate. **Food Chemistry**, v. 69, p. 153 - 160, 2004.

THOMAS, R.; deMAN, J. M.; deMAN, L. Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 66, n. 6, p. 777 - 782, 1989.

VISHWANATHAN, K. H.; GOVINDARAJU, K.; SINGH, V.; SUBRAMANIAN, R. Production of okara and soy protein concentrates using membrane technology. **Food Engineering and Physical Properties**, v. 76, p. 158 - 164, 2011.

YOUSIF, A. M. Soybean grain storage adversely affects grain testa color, texture, and cooking quality. **Journal of Food Quality**, v. 37, p.18 - 28, 2014.

7 CONCLUSÕES

7.1 O envelhecimento acelerado de soja por até seis meses resulta em:

- alteração na composição química dos grãos de soja;
- diminuição da absorção de água pelos grãos durante a maceração;
- aumento no rendimento de *okara*;
- farinha desengordurada de *okara* mais ácida;
- farinha desengordurada de *okara* mais escura e vermelha;
- farinha desengordurada de *okara*, com composição química diferente, evidenciada pelo maior conteúdo proteico;
- redução da solubilidade das proteínas da farinha desengordurada de *okara* em água e em diferentes pHs;
- aumento da densidade aparente da farinha desengordurada de *okara*;
- diminuição do volume de intumescimento da farinha desengordurada de *okara*;
- manutenção dos índices de absorção e retenção de água e óleo da farinha desengordurada de *okara*;
- redução das propriedades emulsificantes (capacidade, atividade e estabilidade) da farinha desengordurada de *okara*;
- aumento das propriedades espumantes (capacidade e estabilidade) da farinha desengordurada de *okara*.

7.2 A farinha desengordurada de *okara* de soja recém-colhida é um ingrediente viável na formulação de salsicha, uma vez que aumenta o rendimento, apesar da redução do conteúdo proteico e aumento de lipídeos, e pequeno aumento da cor amarela, mas com aceitação semelhante à salsicha convencional.

A farinha desengordurada de *okara* de soja envelhecida também é um ingrediente viável na formulação de salsicha, uma vez que não altera o rendimento, apesar do pequeno aumento da cor amarela e do conteúdo lipídico e redução das proteínas, aceitação global e sabor em relação à salsicha convencional. No entanto, a aceitação (6,5) é considerada positiva em uma escala de 9 pontos.

ANEXOS

ANEXO A - APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA ENVOLVENDO SERES HUMANOS



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
Universidade Estadual de Londrina
Registro CONEP 5231

Parecer CEP/UEL:	020/2014
CAAE:	28688514.7.0000.5231
Data da Relatoria:	19/03/2014
Pesquisador(a):	Sandra Helena Prudencio
Unidade/Órgão:	CCA - Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos

Prezado(a) Senhor(a):

O "Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina" (Registro CONEP 5231) – de acordo com as orientações da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/MS e Resoluções Complementares, avaliou o projeto:

“PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE OKARA OBTIDO DE SOJA ENVELHECIDA.”

Situação do Projeto: **Aprovado**

Informamos que deverá ser comunicada, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento da pesquisa, bem como deverá apresentar ao CEP/UEL, via Plataforma Brasil, relatório final da pesquisa.

Londrina, 22 de abril de 2014.


Prof. Dra. Alexandrina Aparecida Maciel Cardelli
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos
 Universidade Estadual de Londrina



ANEXO B - QUESTIONÁRIO DE RECRUTAMENTO DOS JULGADORES

QUESTIONÁRIO PARA OS JULGADORES

(Teste de Aceitação de salsichas com *okara*)

Desejamos formar uma equipe de julgadores para avaliar o quanto gostou (teste de aceitação) de “salsichas com *okara*”. Participar do teste de aceitação não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova levará em torno de 10 a 15 minutos. Este trabalho faz parte do projeto de pesquisa de Mestrado “Propriedades funcionais de *okara* obtido de soja envelhecida”. Para conhecermos melhor nossos julgadores, pedimos que responda as questões a seguir.

1. Nome: _____
 Telefone: _____ Email: _____

2. Sexo: () Feminino () Masculino

3. Faixa etária: () 15-25 () 26-35 () 36-50 () acima de 50 anos

4. Escolaridade

() Ensino fundamental () Graduação
 () Ensino médio () Pós-Graduação

5. Indique se você possui:

() Alguma doença ou está em tratamento médico () Hipertensão (pressão alta)
 () Diabetes () Hipotensão (pressão baixa)

6. Você se encontra em dieta alimentar por razões de saúde? () Sim () Não

7. Especifique os alimentos que você não pode comer ou beber por razões de saúde.

8. Indique a frequência de consumo de salsicha:

() Diariamente
 () 3 a 4 vezes por semana
 () 1 a 2 vezes por semana
 () Raramente (1 vez por mês ou menos)
 () Nunca

Qual tipo de salsicha você consome? () Frango () Peru () Carne suína () Vegetal
 () Outros: _____

9. Você consome algum dos seguintes produtos à base de soja?

() proteína de soja (texturizada, concentrada ou isolada) () farinha de soja
 () bebidas à base de soja () *shoyu*
 () *tofu* () Outros: _____

10. Já participou de algum teste sensorial? () Sim () Não
 De que tipo? () Aceitação () Discriminativo () Descritivo

ANEXO C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**

(Teste de Aceitação de salsichas elaboradas com *okara*)

Título da Pesquisa: Propriedades funcionais de *okara* obtido de soja envelhecida

Pesquisadores: Bruna Yumi Yoshida e Prof.^a Dr.^a Sandra Helena Prudencio

Objetivo do estudo: Avaliar a aceitação de salsichas com *okara*

Para a realização desta pesquisa, você está sendo convidado a participar de um teste de aceitação de salsichas com *okara* (subproduto proteico obtido da produção do leite de soja e *tofu*) como julgador. Sua função como julgador será avaliar o quanto gostou ou desgostou das diferentes salsichas que serão servidas durante a sessão de avaliação previamente agendada. Para tanto, você também receberá uma ficha de avaliação sensorial contendo uma escala hedônica de 9 (nove) pontos, sendo atribuído valor 1 ao termo “desgostei extremamente” e valor 9 ao termo “gostei extremamente”. Após a degustação, você atribuirá um valor para cada salsicha, de acordo com a escala. As salsichas terão como ingredientes: carnes de aves e suínos, toucinho, fécula de mandioca, nitrito e nitrato de sódio, sal refinado, antioxidante eritorbato de sódio, estabilizante tripolifosfato de sódio, lactato de sódio, aroma de fumaça, condimento para salsicha, açúcar, corante urucum, corante carmim, farinha de *okara* desengordurada e proteína isolada de soja.

Riscos: Não há riscos associados à ingestão das salsichas, por se tratar de um produto seguro. Caso o provador relate ser alérgico ou apresentar qualquer tipo de problema de saúde, relacionado ou não aos ingredientes, será dispensado e não participará da pesquisa.

Londrina, _____ de _____ de 2014.

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Sandra Helena Prudencio

Telefone/e-mail: (43) 3371-4986/ sandrah@uel.br

Após ler e receber as explicações sobre a pesquisa e conhecendo meus direitos de:

- 1- Receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados à pesquisa, seja do pesquisador responsável (tel. 3371-4986) e/ou do Comitê de Ética (tel.: 3371-2490), cep2681@uel.br;
- 2- Retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de permitir minha participação no estudo ou de qualquer indivíduo sob minha responsabilidade;
- 3- Não ser identificado e ser mantido o caráter confidencial das informações.

Eu, _____, declaro que fui satisfatoriamente esclarecido pelo pesquisador, com relação à minha participação como julgador na pesquisa “Propriedades funcionais de *okara* obtido de soja envelhecida”. Além

disso, não coloco qualquer objeção quanto ao uso dos dados originados neste projeto para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas nacionais ou internacionais. Desta forma, concordo voluntariamente e expresso meu total consentimento em participar do projeto.

Londrina, ____ de _____ de 2014.

Assinatura: _____

ANEXO D - FICHA DE AVALIAÇÃO**TESTE HEDÔNICO**

NOME: _____

DATA: ___/___/___

Prove a amostra codificada de salsicha e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada atributo na amostra.

- 9 – gostei muitíssimo
- 8 – gostei muito
- 7 – gostei moderadamente
- 6 – gostei ligeiramente
- 5 – nem gostei / nem desgostei
- 4 – desgostei ligeiramente
- 3 – desgostei moderadamente
- 2 – desgostei muito
- 1 – desgostei muitíssimo

Código da amostra:	VALORES PARA OS ATRIBUTOS				
	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Avaliação global

Comentários:
